

*AUS DEM LEHRSTUHL FÜR PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE  
PROF. DR. MED. RAINER RUPPRECHT  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG*

**ANTHOCYANE: HEMMUNG DES ENZYMS CYP2C9 IN VITRO UND  
VERTRÄGLICHKEIT IN VIVO**

**Inaugural-Dissertation**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
**Julia Ramírez Pérez**

2017



*AUS DEM LEHRSTUHL FÜR PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE  
PROF. DR. MED. RAINER RUPPRECHT  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG*

**ANTHOCYANE: HEMMUNG DES ENZYMS CYP2C9 IN VITRO UND  
VERTRÄGLICHKEIT IN VIVO**

**Inaugural–Dissertation**  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
**Julia Ramírez Pérez**

2017

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Göran Hajak

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Thomas Loew

Tag der mündlichen Prüfung: 24.07.2018

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
Abbildungsverzeichnis .....	4
Tabellenverzeichnis.....	6
Abkürzungsverzeichnis .....	7
1 Einleitung und Zielsetzung.....	8
1.1 Nahrungsmittelbestandteile .....	8
1.2 Anthocyane.....	13
1.2.1 Struktur, Vorkommen und Resorption von Anthocyanen .....	13
1.2.2 Gesundheitsfördernde Eigenschaften von Anthocyanen .....	14
1.2.3 Anthocyane in Form von Nahrungsergänzungsmitteln .....	15
1.2.4 Anthocyane und der Cytochromenzymkomplex .....	15
1.3 Zielsetzung .....	16
2 Material und Methode .....	19
2.1 Enzymkinetik.....	19
2.2 Anthocyane und Referenzsubstanzen .....	22
2.3 Nachweis der CYP2C9-Enzymaktivität mittels eines Lichtsignals .....	24
2.4 Messung der CYP2C9-Enzymaktivität zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration .....	30
2.5 Messung der CYP2C9-Enzymaktivität zur Bestimmung der Inhibitionskonstante.....	31
3 Ergebnisse .....	33
3.1 Halbmaximale Hemmkonzentrationen .....	33
3.1.1 Halbmaximale Hemmkonzentration von Cyanidin .....	33
3.1.2 Halbmaximale Hemmkonzentration von Ideain .....	34
3.1.3 Halbmaximale Hemmkonzentration von Kuromanin.....	34
3.1.4 Halbmaximale Hemmkonzentration von Keracyanin .....	35
3.1.5 Halbmaximale Hemmkonzentration von Cyanin .....	36

3.1.6	Überblick über die halbmaximalen Hemmkonzentrationen der untersuchten Anthocyane.....	37
3.2	Inhibitionskonstanten .....	37
3.2.1	Inhibitionskonstante von Cyanidin .....	38
3.2.2	Inhibitionskonstante von Ideain .....	39
3.2.3	Inhibitionskonstante von Kuromanin.....	40
3.2.4	Inhibitionskonstante von Keracyanin .....	42
3.2.5	Inhibitionskonstante von Cyanin .....	43
3.2.6	Überblick über die Inhibitionskonstanten der untersuchten Anthocyane .....	45
4	Diskussion der Ergebnisse und retrospektive Studienanalyse.....	46
4.1	Diskussion der Ergebnisse der Lumineszenz-Assays.....	46
4.1.1	Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration .....	46
4.1.2	Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung der Inhibitionskonstanten .....	48
4.1.3	Auswirkungen von Inhibitoren auf den Medikamentenabbau .....	49
4.2	Bioverfügbarkeit von Anthocyanen .....	50
4.3	Positive Eigenschaften von Flavonoiden in vivo .....	52
4.3.1	Kardioprotektive Eigenschaften von Flavonoiden.....	53
4.3.2	Flavonoide und das französische Paradoxon.....	58
4.3.3	Antioxidative Eigenschaften von Flavonoiden .....	63
4.3.4	Einfluss von Anthocyanen auf das harnableitende System .....	67
4.3.5	Andere positive Eigenschaften von Anthocyanen.....	71
4.4	Negative Eigenschaften von Flavonoiden in vivo.....	75
4.4.1	Verträglichkeit von Flavonoiden.....	76
4.4.2	Einfluss von Anthocyanen auf den Medikamentenmetabolismus in vivo	81
4.4.3	Einfluss von Anthocyanen auf bestehende	

Medikamenteninteraktionen .....	82
4.4.4 Kritischer Blick auf Phytotherapeutika .....	84
4.5 Interpretation der Laborergebnisse unter Berücksichtigung der Studienergebnisse .....	86
5 Zusammenfassung .....	89
6 Anhang.....	93
6.1 Anhang 1: Tabellarischer Überblick über die untersuchten klinischen Studien .....	93
6.2 Anhang 2: Tabellarischer Überblick über polyphenol-induzierte Nebenwirkungen und Studienabbrüche.....	144
7 Literaturverzeichnis .....	162
8 Lebenslauf .....	181
9 Danksagung.....	182

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Grundgerüst der Flavonoide: Flavan. ....	11
Abbildung 2: Grundgerüst der Anthocyane. ....	14
Abbildung 3: Michaelis-Menten-Kinetik. ....	19
Abbildung 4: Lineweaver-Burk-Diagramm.....	20
Abbildung 5: Michaelis-Menten-Darstellung einer nichtkompetitiven Hemmung. .....	21
Abbildung 6: Lineare Darstellung einer nichtkompetitiven Hemmung in Anwesenheit unterschiedlicher Inhibitorkonzentrationen (Lineweaver-Burk). ..	21
Abbildung 7: NADPH-Neusynthese durch Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. .....	28
Abbildung 8: Umwandlung des luminogenen Substrats zu D-Luciferin durch das Cytochrom P450-Isoenzym. ....	28
Abbildung 9: Luciferase-Reaktion: Umwandlung von D-Luciferin zu Oxyluciferin mit Entstehung eines stabilen Lichtsignals.....	29
Abbildung 10: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Cyanidin. ....	33
Abbildung 11: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Ideain. ....	34
Abbildung 12: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Kuromanin.....	34
Abbildung 13: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Keracyanin. ....	35
Abbildung 14: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Cyanin.....	36
Abbildung 15: Lineweaver-Burk-Diagramm für Cyanidin in einer Konzentration von 2 $\mu$ M, 10 $\mu$ M und 20 $\mu$ M sowie für DMSO. ....	39
Abbildung 16: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Cyanidin. .....	39



Abbildung 17: Lineweaver-Burk-Diagramm für Ideain in einer Konzentration von 20 $\mu\text{M}$ , 40 $\mu\text{M}$ und 200 $\mu\text{M}$ sowie für DMSO .....	40
Abbildung 18: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Ideain. ..	40
Abbildung 19: Lineweaver-Burk-Diagramm für Kuromanin in einer Konzentration von 20 $\mu\text{M}$ , 40 $\mu\text{M}$ und 200 $\mu\text{M}$ sowie für DMSO. ....	41
Abbildung 20: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Kuromanin. ....	41
Abbildung 21: Lineweaver-Burk-Diagramm für Keracyanin in einer Konzentration von 40 $\mu\text{M}$ , 100 $\mu\text{M}$ und 200 $\mu\text{M}$ sowie für DMSO .....	42
Abbildung 22: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Keracyanin. ....	43
Abbildung 23: Lineweaver-Burk-Diagramm für Cyanin in einer Konzentration von 40 $\mu\text{M}$ , 200 $\mu\text{M}$ und 400 $\mu\text{M}$ sowie für DMSO. ....	43
Abbildung 24: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Cyanin. .	44

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Einteilung, Vorkommen und Vertreter sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe .....	10
Tabelle 2: Verbindungsklassen, Vorkommen und Eigenschaften von Flavonoiden. ....	12
Tabelle 3: Strukturformeln der untersuchten Anthocyane.....	23
Tabelle 4: Zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration verwendete Anthocyankonzentrationen.....	25
Tabelle 5: Zur Bestimmung der Inhibitionskonstante verwendete Anthocyankonzentrationen.....	26
Tabelle 6: Anthocyankonzentrationen nach Zugabe aller Reagenzien zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration. ....	30
Tabelle 7: Anthocyankonzentrationen nach Hinzugabe aller Reagenzien zur Bestimmung der Inhibitionskonstante. ....	32
Tabelle 8: Die halbmaximalen Hemmkonzentrationen der Anthocyane im Überblick. ....	37
Tabelle 9: Die Inhibitionskonstanten der Anthocyane im Überblick. ....	45

## Abkürzungsverzeichnis

ACE	Adenosin converting enzyme
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
CFR	Koronare Flussreserve
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CYP	Cytochromenzym
DMSO	Dimethylsulfoxid
FMD	Flow mediated dilatation
HDL	High density lipoprotein
IC <sub>50</sub>	Inhibitorkonzentration bei halbmaximaler Hemmung
K <sub>i</sub>	Inhibitionskonstante
K <sub>M</sub>	Michaelis-Menten-Konstante
LDL	Low density lipoprotein
MDA	Malondialdehyd
NADP <sup>+</sup>	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat (oxidiert)
NADPH	Nikotinamidadenindinukleotidphosphat (reduziert)
NEM	Nahrungsergänzungsmittel
NemV	Nahrungsergänzungsmittelverordnung
NO	Stickstoffmonoxid
OPC	Oligomere Procyanidine
RWPE	Red wine polyphenolic extracts
RIVA	Ramus interventricularis anterior
S	Substrat
SD	Standardabweichung
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances
Th <sub>1</sub> -, Th <sub>2</sub> -Zellen	T-Helferzellen
U	Unit
$\lambda_{\max}$	maximale Wellenlänge
VKORC1	Vitamin-K-Epoxid-Reduktase Complex

# **1 Einleitung und Zielsetzung**

In Deutschland nimmt annähernd jede dritte Person über 70 Jahre regelmäßig fünf verschiedene Medikamente ein (Junius-Walker et al. 2007). Durch Komedikation steigt das Risiko für Medikamenteninteraktionen (Lenssen et al. 2016). Arzneimittelbedingte Krankenhauseinweisungen machen Metaanalysen zufolge sieben Prozent aller Hospitalisationen aus (Cascorbi et al. 2012). Unerwünschte Nebenwirkungen treten nicht nur infolge von Medikamenteninteraktionen auf, sondern auch durch Wechselwirkungen zwischen Arzneimittel und Pflanzeninhaltsstoffen, die über die Nahrung oder in Form von Nahrungsergänzungsmitteln aufgenommen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Anthocyanen als Vertreter sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe auf die in vitro Aktivität des Cytochrom P450-Isoenzym CYP2C9 mittels Lumineszenz-basierter Assays ermittelt. Das Cytochromenzym CYP2C9 verstoffwechselt 15 Prozent der hepatisch metabolisierten Arzneimittel (Rendic 2002).

Des Weiteren wurden Nutzen und Nebenwirkungen anthocyanhaltiger Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel anhand einer retrospektiven Auswertung klinischer Studien analysiert und in Hinblick auf Nahrungsmittelsicherheit und Medikamenteninteraktionen bewertet.

## **1.1 Nahrungsmittelbestandteile**

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe werden den nicht-essentiellen Nahrungsbestandteilen zugeordnet. Nahrungsbestandteile können unter quantitativen und qualitativen Gesichtspunkten betrachtet werden (Bäbler et al. 1987). Unter dem quantitativen Aspekt versteht man die Zusammensetzung der Nahrung aus den Hauptnährstoffen Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate. Idealerweise werden 55-60 Prozent des Energiebedarfs durch Kohlenhydrate, 25-30 Prozent durch Fette und 10-15 Prozent durch Proteine gedeckt (Klinke et al. 2009). Unter dem qualitativen Aspekt werden essentielle und nicht-essentielle Nahrungsbestandteile unterschieden.

Essentielle Nahrungsbestandteile werden mit der Nahrung aufgenommen und können nicht durch andere Stoffe ersetzt werden. Zu ihnen zählen Vitamine, Mineralien, Spurenelemente, die essentiellen Aminosäuren Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin,

Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan, Valin und die essentiellen Fettsäuren Linolsäure und Linolensäure (Löffler 2005).

Unter nicht-essentiellen Nahrungsbestandteilen werden Substanzen mit gesundheitlichem Nutzen ohne Nährstoffcharakter verstanden. Sie werden als bioaktive Substanzen bezeichnet und haben Einfluss auf eine Vielzahl von Stoffwechselprozesse (Watzl & Leitzmann 2005). Zu den nicht-essentiellen Nahrungsbestandteilen zählen Ballaststoffe, fermentierte Lebensmittel und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe.

Ballaststoffe werden im menschlichen Körper nicht enzymatisch gespalten, sondern verhalten sich inert. Ihnen werden Zellulose und andere pflanzliche Polysaccharide zugeordnet. Zellulose wird von Darmbakterien zu kurzkettigen, absorbierbaren Fettsäuren abgebaut. Ballaststoffe bewirken eine langsamere Glukoseresorption, eine geringere Cholesterinaufnahme und eine gesteigerte Magensaftsekretion (Klinke et al. 2009). Es wird angenommen, dass eine hohe Ballaststoffzufuhr der Entstehung von Kolondivertikeln und Kolonkarzinomen vorbeugt (Bernaud & Rodrigues 2013).

Fermentation bezeichnet die enzymatische Umwandlung organischer Stoffe durch Bakterien- oder Pilzkulturen. Zu den fermentierten Lebensmitteln zählen unter anderem Prä- und Probiotika. Rohe, fermentierte Lebensmittel beinhalten eine Vielzahl lebendiger Bakterienkulturen wie zum Beispiel Milchsäurebakterien. Die Fähigkeit einiger Milchsäurebakterienstämme, die bei Atopikern vorherrschende Th2-basierte Immunantwort zu einem ausgeglichenen Th1/Th2-Immunprofil zu transformieren, kann eine Verbesserung von Allergien bewirken (Ongol et al. 2008). Fermentierte Lebensmittel erhöhen darüber hinaus die Bioverfügbarkeit sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (Timan et al. 2014). Aktive Milchsäurebakterien werden industriell gefertigten Lebensmitteln zugesetzt und als Probiotika vertrieben. Präbiotika bezeichnen Lebensmittel, denen Kohlenhydrate als Nahrungsgrundlage für Darmbakterien zugesetzt sind. Sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Reisediarrhöen und Durchfällen infolge viraler Infekte oder Antibiotikabehandlungen bewirken Probiotika oder Präbiotika günstige Veränderungen der Darmflora (Johnston et al. 2016, Oliveira et al. 2009, Vrese et al. 2002).

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe bezeichnen Pflanzenbestandteile, die nicht primär zu Photosynthese, Pflanzenwachstum oder -entwicklung notwendig sind. Sie fungieren

unter anderem als Farbstoffe, als Wachstumsregulatoren oder als Abwehrstoffe gegen Schädlinge.

Tabelle 1: Einteilung, Vorkommen und Vertreter sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe	Vorkommen	Vertreter	1. Geschätzte tägliche Aufnahme bzw. Gehalt in Lebensmitteln und 2. Resorptionsrate
Carotinoide	Orange-gelb-rotes Obst und Gemüse, grünblättriges Gemüse	Beta-Carotin (in Lebensmitteln: Provitamin A, Lebensmittelfarbe E160)	1. Betacarotin: 1,1 mg/d (Müller 1996) 2. Betacarotin 20-35 % (Bäßler & Lang 1975)
Phytosterine	Sonnenblumenkerne, Sesamsaaten, Öle, mit Phytosterinen angereicherte Margarine	Beta-Sitosterin	1. Phytosterine, davon 50 % Beta-Sitosterin: 150-400 mg/d (Leitzmann et al. 2003) 2. Phytosterine <5 % (Leitzmann et al. 2003)
Phytoöstrogene (Isoflavone und Lignane)	Soja Vollkorngetreide, Ölsaaten, Leinsamen, Baldrianwurzel	<u>Isoflavone</u> : Genistein, Daidzein, Coumestrol <u>Lignane</u> : Secoisolariciresinol, Matairesinol	<u>Soja- Isoflavon</u> : 1. Soja-arme Ernährung: 2 mg/d Soja-reiche Ernährung: 15-50 mg/d (Chopra et al. 2010) 2. Resorption 20-55 % (Chopra et al. 2010) <u>Lignane</u> : 1. 150 µg/d (z.B. Secoisolariciresinol) bis 1600 µg/d (z.B. Pinoresinol) (Peterson et al. 2010), Matairesinol 0,07 mg/d (Kulling & Watzl 2003) 2. Keine validen Daten
Sulfide	Knoblauch, Zwiebeln, Lauch	Diallylsulfid, Alliin	1. Diallylsulfid: 30–99 µg/g Knoblauch, Alliin: 3,6 mg/g Knoblauch S-Allylcystein: bis 30 µg/g Knoblauch (Watzl 2002) 2. S-Allylcystein: 55-67 % (Watzl 2002)
Monoterpene	Ätherische Öle aus Zitrusfrüchten, Fenchel, Kümmel, Pfefferminze	D-Limonen, D-Carvon	1. D-Carvon in Kümmel: 3g pro 100 g Trockenmasse 2. Bioverfügbarkeit „hoch“ (Biesalski & Grimm 2015)
Saponine	Hülsenfrüchte, Spargel, Hafer, Spinat, Lakritze	Tenside, Glycyrrhizin	1. Bis zu 2000 mg Glycyrrhizin in 100 g Lakritze (Watzl 2001) 2. Glycyrrhizin < 3 % (Watzl 2001)
Glucosinolate	Kreuzblütler: Kresse, Kohlrabi, Brokkoli, Meerrettich, Senf	Sinigrin, Glucobrassicin, Isocyanate	1. Indol-Verbindungen 43 mg/d, v.a. Weißkohl. Bei vegetarischer Ernährung bis 110 mg/d (Watzl 2001), 2. Bioverfügbarkeit „hoch“ (Watzl 2001)
Polyphenole (Phenolsäuren, Flavonoide)	Zwiebel, Soja, Vollkorn, Kaffee, Tee, Wein, Nüsse	Phenolsäuren wie z.B. Kaffeesäure, Flavonoide mit Unterteilung in sechs Untergruppen, darunter Anthocyane	1. Polyphenole: 1 g/d (Ward et al 2005) 2. Wird im Folgenden untersucht

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe werden anhand ihrer chemischen Struktur unterteilt und kommen in unterschiedlichen Pflanzen und Lebensmitteln vor (siehe Tabelle 1). Der Gehalt sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe in Lebensmitteln kann in Abhängigkeit von der Molekülstruktur, der Lagerung oder der Zubereitung der Lebensmittel stark schwanken. Angaben in Datenbanken und Nährwerttabellen sind daher nur als Richtwerte zu betrachten. Im Rahmen einer ausgewogenen Ernährung werden pro Tag circa 1,5 g sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe aufgenommen. Typische Quellen sind Obst, Tee, Kaffee, Wein, Fruchtsäfte und zu einem geringeren Anteil Gemüse, Cerealien und Hülsenfrüchte (Farkas et al. 2007). Bei vegetarischer Ernährung kann die Aufnahme höher sein (Biesalski & Grimm 2015, Watzl 2008).

Eine Untergruppe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe stellen Polyphenole dar. Sie besitzen aromatische Strukturen, die zwei oder mehr Hydroxylgruppen enthalten (Mason 2007, Mozzicafreddo et al. 2009, Watzl & Rechkemmer 2001). Polyphenole werden unterteilt in Phenolsäuren und Flavonoide.

Flavonoide bestehen aus drei Kohlenstoffringen, davon zwei aromatische Ringe und ein O-heterozyklischer Ring. Dieses Grundgerüst wird als Flavan bezeichnet.

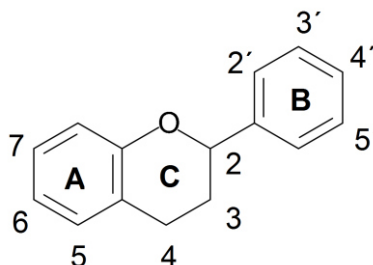


Abbildung 1: Grundgerüst der Flavonoide: Flavan.

(Erdman et al. 2007)

Die große strukturelle Vielfalt der Flavonoide mit etwa 6500 bekannten Strukturen kommt durch die Modifizierung am Grundgerüst zustande (Corradini et al. 2011). Flavonoide werden anhand struktureller Unterschiede am C-Ring (siehe Abbildung 1) in sechs Gruppen unterteilt: Flavonole, Flavanole, Flavanone, Flavone, Isoflavone und Anthocyane (siehe Tabelle 2).

Seit langem werden für den Verzehr sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe unter anderem antioxidative Eigenschaften und günstige Effekte zur Prävention kardiovaskulärer oder

onkologischer Erkrankungen diskutiert (Bendich & Olson 1989; Di Mascio et al. 1989, Le Marchand et al. 1989, Renz-Polster & Krautzig 2008, Romagnolo & Selmin 2012 - siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Verbindungsklassen, Vorkommen und Eigenschaften von Flavonoiden.

(Ashalatha et al. 2010, Benavente-García & Castillo 2008, Buijsse et al. 2006, Davis et al. 2008, Heiss et al. 2005, Henning et al. 2004, Lamy et al. 2006, Lin et al. 2008, Seelinger et al. 2008, Watzl & Rechkemmer 2001)

<b>Verbindung</b>	<b>Beispiel</b>	<b>Vorkommen</b>	<b>Eigenschaften (Auswahl)</b>
Flavonole	Quercetin	Zwiebeln, Endivien	antiinflammatorisch
Flavanole	Tannine wie Gallussäure, Ellagsäure, Oligomere Proanthocyanidine („OPC“): Dimere oder Trimere von Catechinen, Epicatechinen	Rotwein, Äpfel, grüner Tee, Cranberries	antioxidativ, antihypertensiv
Flavanone	Naringenin, Hesperidin	Grapefruits, Orangen	antiinflammatorisch
Flavone	Apigenin Luteolin	Sellerie, Paprika	antikanzerogen, antiallergen, antioxidativ
Isoflavone	Genistein Diadzein	Sojabohnen	antikanzerogen
Anthocyane	Malvidin Cyanidin	Rotwein, Trauben, Cranberries, Grapefruits, Kirschen	antioxidativ, antiproliferativ, antikanzerogen

In dieser Arbeit wird die Verbindungsklasse der Anthocyane genauer untersucht.



## 1.2 Anthocyane

Anthocyanen (griech. *ánthos*: Blüte, *kyáneos*: dunkelblau, englisch: anthocyanin) kommt eine besondere Bedeutung unter den Flavonoiden zu, da die gesundheitsfördernde Wirkung vieler Pflanzen und pflanzlicher Lebensmittel mit ihnen in Verbindung gebracht wird (Gerhauser 2008, Mason 2007, Neto 2007).

### 1.2.1 Struktur, Vorkommen und Resorption von Anthocyanen

In der Natur liegen Anthocyane sowohl als Aglykone (Anthocyanidine) als auch als Glykoside (Anthocyanine) vor (Watzl & Leitzmann 2005).

Die Farbe vieler Obst- und Gemüsesorten erklärt sich durch das Absorptionsmaximum der vor allem in der Schale oder den Randschichten der Pflanzen enthaltenen Anthocyane bei einer Wellenlänge von 465-560 nm. Die Absorptionsmaxima sind abhängig von der Struktur und dem pH-Wert. Bei pH-Werten von 1–3 sind Anthocyane rot gefärbt, bei pH-Werten von 4–6 farblos. Alkalische pH-Werte über 7 verändern die Farbe zu violett und blau. Ferner spielen komplex gebundene Spurenelemente für die Stabilität und Farbe eine Rolle (Watzl et al. 2002).

Bezogen auf 100 g Frischgewicht liegt der Anthocyangehalt von roten Zwiebeln bei circa 13 mg, von Kirschen bei 117 mg, von Rotkohl bei 322 mg, von schwarzen Johannisbeeren bei 476 mg, von Blaubeeren bei 588 mg, von Holunderbeeren bei 749 mg und von Apfelbeeren bei 1480 mg (Mason 2007, Nyman & Kumpulainen 2001, Wu et al. 2006). Anthocyane finden sich in Nahrungsmitteln auch als zugelassene Lebensmittelzusatzstoffe unter der E-Nummer 163 (Zusatzstoff-Verkehrsverordnung 1998).

Es sind mehr als 300 Einzelverbindungen von Anthocyanen bekannt (Quast 2008). Ihre Grundstruktur besteht aus drei Phenolringen (siehe Abbildung 2). Anthocyane unterscheiden sich von anderen Flavonoiden durch ihre positive Ladung am C-Ring. Sie weisen eine Hydroxylgruppe in Position 3 des C-Rings auf, deren Glykosylierung als Voraussetzung für die Molekülstabilität betrachtet wird. Die einzelnen Anthocyane variieren in der Hydroxy- und Methoxy-Gruppe des B-Rings (Watzl et al. 2002). Eine weitere Glykosylierung kann in Position 5 des A-Rings erfolgen (Sarkar 2011).

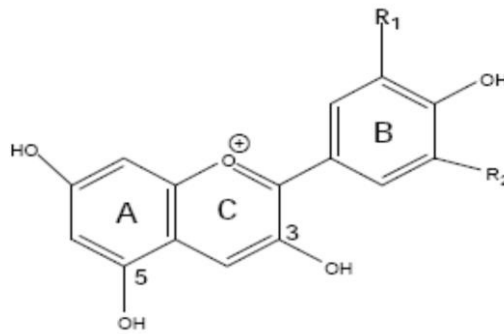


Abbildung 2: Grundgerüst der Anthocyane.  
(Watzl et al. 2002)

Anthocyane werden unter Beteiligung des Anionentransporters Bilitranslokase nur zum Teil bereits im Magen resorbiert (Passamonti et al. 2002, Passamonti et al. 2005, Talavéra et al. 2003), da sich das saure Magenmilieu stabilisierend auf Flavonoidglykoside und damit insbesondere auf Anthocyane auswirkt (Bermudez-Soto et al. 2007, Kahle et al. 2011). Somit gelangt ein Großteil der Anthocyane unverändert in den Dünndarm und wird über die Darmschleimhaut aufgenommen (Crozier et al. 2009, McGhie & Walton 2007). Anthocyane werden nach der gastrointestinalen Resorption hepatisch metabolisiert (Fang 2014).

### 1.2.2 Gesundheitsfördernde Eigenschaften von Anthocyanen

Die Hypothese eines gesundheitlichen Nutzens durch Anthocyane konnte in verschiedenen Arbeiten in vitro und im Tierversuch verifiziert werden.

In vitro wurden Eigenschaften der Anthocyane identifiziert, die in vivo der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen vorbeugen könnten, wie beispielsweise die Hemmung der Plättchenaggregation, die Senkung des Blutdrucks und die Erhöhung der antioxidativen Kapazität. Anthocyane besitzen in vitro einen deutlichen Effekt auf die endotheliale Funktion. An humanen Epithelzellen konnten protektive Eigenschaften der Anthocyane hinsichtlich der Entstehung einer Arteriosklerose nachgewiesen werden (Garcia Alonso et al. 2009, Oak et al. 2006).

In mikro- bis millimolaren Konzentrationsbereichen wurde in vitro ein antioxidatives und antikarzinogenes Potential für das Anthocyan Delphinidin gezeigt (Afaq et al. 2008). In postmitotischen neuronalen Zellen wirkt sich die antioxidative Kapazität besonders aus, da diese Zellen nur in kleinem Umfang ersetzbar sind.

In Tierversuchen konnten durch die Aufnahme von Anthocyanen unter anderem günstige Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel sowie protektive Effekte auf die Pathogenese chronischer Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson beobachtet werden (Graf et al. 2013, Gutierrez et al 2014, Joseph et al. 2005).

In der vorliegenden Arbeit werden Humanstudien retrospektiv analysiert, in denen Probanden Polyphenole und insbesondere Anthocyane erhielten, und geprüft, ob die aus Labor- bzw. Tierversuchen gefolgerten positiven Auswirkungen von Anthocyanaufnahme auf den Menschen übertragbar sind.

### **1.2.3 Anthocyane in Form von Nahrungsergänzungsmitteln**

Der vermutete Nutzen bioaktiver Substanzen und hierunter insbesondere der Nutzen von Anthocyanen haben zu einem breit gefächerten Angebot funktioneller Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel geführt. Mindestens 25 Prozent der deutschen Bundesbürger nehmen Umfragen zufolge regelmäßig Nahrungsergänzungsmittel ein (Max-Rubner-Institut, 2008). Nahrungsergänzungsmittel werden als Mono- oder Multipräparate angeboten und beinhalten unter anderem Vitamine, Spurenelemente und sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe. Diese Präparate fallen nicht unter das Arzneimittelgesetz, sondern unter das Lebensmittelgesetz. Die Hersteller der Präparate sind somit weder verpflichtet, einen Wirksamkeits- noch einen Unbedenklichkeitsnachweis zu führen (NemV, BGBL 2004). Für Lebensmittel, die neben der Bereitstellung von Nährstoffen zusätzlich gesundheitlich relevante Parameter beeinflussen sollen, wurde der Begriff der „funktionellen Lebensmittel“ geprägt, der rechtlich nicht definiert ist. Funktionelle Lebensmittel werden nicht den Nahrungsergänzungsmitteln zugeordnet, sondern stellen Lebensmittel des allgemeinen Verzehrs wie zum Beispiel mit Anthocyanen angereicherte diätetische Lebensmittel dar.

### **1.2.4 Anthocyane und der Cytochromenzymkomplex**

Das überwiegend in der Leber lokalisierte Cytochrom-P450-Enzymsystem spielt eine zentrale Rolle in Hinblick auf den Metabolismus zahlreicher Medikamente. Es handelt sich um Hämproteine mit enzymatischer Aktivität, die in der Membran des endoplasmatischen Retikulums exprimiert werden (Nelson & Cox 2001). Sie werden

den Oxidoreduktasen zugeordnet und nehmen Hydroxylierungen unter Verbrauch von Sauerstoff vor. Ihr Name verweist auf ihr Absorptionsmaximum in vitro bei 450 nm (Ortiz de Montellano 1995). Der Cytochromenzymkomplex ist durch das Präfix CYP gekennzeichnet. Die darauffolgende arabische Ziffer bezeichnet die Familie, der Großbuchstabe die Subfamilie und die arabische Zahl das Isoenzym (Wijnen et al. 2007). Die über 50 bekannten Isoenzyme des Cytochromsystems unterscheiden sich strukturell in der Abfolge ihrer Aminosäureketten. Bis zu 90 Prozent aller hepatisch metabolisierten Arzneimittel werden von den sechs Isoenzymen CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 und CYP3A5 verstoffwechselt (Lynch & Price 2007, Wang et al. 2009). Davon entfallen 20 Prozent auf die Subfamilie CYP2C mit den vier Isoenzymen CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 und CYP2C19. Das im Folgenden betrachtete Cytochromenzym 2C9 ist für bis zu 15 Prozent des hepatischen Medikamentenmetabolismus verantwortlich (Wang et al. 2009).

Zu den Substraten gehören unter anderem Arzneimittel mit geringer therapeutischer Breite, wie Antikoagulantien (z.B. Warfarin) und Neuroleptika (z.B. Phenytoin) aber auch nichtsteroidale Antirheumatika (z.B. Diclofenac, Ibuprofen und S-Naproxen), orale Antidiabetika (z.B. Sulfonylharnstoffe wie Tolbutamid und Glipizid), Angiotensin-Rezeptor-Blocker (z.B. Losartan und Valsartan) und Betablocker (z.B. Carvedilol, Bisoprolol und Metoprolol) (Leite et al. 2016, Lynch & Price 2007, Rettie & Jones 2005, Schwab et al. 2002, Shord et al. 2008, Yang et al. 2016). Neben Arzneimitteln metabolisiert das Enzym CYP2C9 auch endogene Stoffe wie Linolensäure, 5-Hydroxytryptamin oder Arachidonsäure.

Anthocyane stellen keine Substrate der Cytochromenzyme dar. Sie können den Cytochromenzymkomplex jedoch durch Induktion oder Inhibition beeinflussen und dadurch eine Veränderung der Plasmamedikamentenspiegel verursachen (Brøsen 1996, Fleschhut et al. 2006, Tassaneeyakul et al. 2000).

### **1.3 Zielsetzung**

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zum einen, den Einfluss verschiedener Anthocyane auf die Aktivität des Cytochrom P450-Isoenzyms 2C9 in vitro zu klassifizieren und zum anderen, positive und negative Eigenschaften in vitro von verschiedenen Polyphenolen, darunter insbesondere von Anthocyanen, zu beleuchten.

Als Testsubstanzen wurden die fünf Anthocyane Cyanidin, Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin gewählt. Sie stellen Inhibitoren des Isoenzym P450 2C9 dar. Um das Ausmaß der CYP2C9-Aktivitätshemmung durch diese Stoffe zu ermitteln, wurden im Labor isoenzymspezifische Lumineszenz-Assays durchgeführt (zu Material und Methode siehe Abschnitt 2). Die Enzymaktivitätshemmung wurde in Abschnitt 3.1 anhand der halbmaximalen Hemmkonzentration der Anthocyane dargestellt. Um die Ergebnisse mit anderen Arbeiten besser vergleichbar zu machen, wurden in einem weiteren Versuch die jeweiligen Inhibitionskonstanten der Testsubstanzen ermittelt und der Inhibitionsmechanismus herausgearbeitet (siehe Abschnitt 3.2). Die im Labor erhaltenen halbmaximalen Hemmkonzentrationen und die Inhibitionskonstanten der einzelnen Anthocyane in Bezug auf CYP2C9 wurden zueinander in Beziehung gesetzt und mit anderen in vitro Studien verglichen.

Um die in den Versuchen in vitro nachweisbaren Eigenschaften der Anthocyane mit Effekten in vivo zu verknüpfen, wurde im zweiten Teil der Arbeit eine retrospektive Studienanalyse durchgeführt. Es wurden klinische Studien analysiert, in denen Probanden verschiedene Anthocyane in unterschiedlicher Darreichungsform erhielten. Dabei wurde zur Bewertung der klinischen Relevanz einer Anthocyanaufnahme zunächst die Bioverfügbarkeit verschiedener anthocyanreicher Lebensmittel untersucht (siehe Abschnitt 4.2). Der vor allem für Anthocyane postulierte positive Nutzen sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe wurde in den Abschnitten 4.3.1 bis 4.3.3 im Hinblick auf die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen evaluiert. Dabei wurde unter anderem die Evidenz des als „französischen Paradoxon“ bekannten Phänomens genauer betrachtet (siehe Abschnitt 4.3.2). Des Weiteren wurde in den Abschnitten 4.3.4 und 4.3.5 herausgearbeitet, ob sich anthocyanhaltige Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel günstig auf die Prävention urologischer, ophtalmologischer, neurologischer, onkologischer oder gastroenterologischer Erkrankungen auswirken können. In Abschnitt 4.4 wurde auf unerwünschte Nebenwirkungen von Anthocyanen eingegangen, wobei besonders die Verträglichkeit der untersuchten Testsubstanzen evaluiert und nebenwirkungsassoziierte Studienabbrüche dargelegt wurden. Einen tabellarischen Überblick über die betrachteten Studien über die Fragestellung, Methodik und Ergebnisse der Studien sowie über detaillierte Angaben zu den Probanden liefert Anhang 1. In Anhang 2 sind die in den Studien aufgetretenen,

insbesondere durch Polyphenole verursachten Nebenwirkungen und Studienabbrüche tabellarisch aufgelistet. Die Laborergebnisse werden in Abschnitt 4.5 unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus den analysierten Humanstudien interpretiert. Abschließend wird die klinische Relevanz von Anthocyanen unter anderem in Hinblick auf den gesundheitlichen Nutzen und die Arzneimittelsicherheit diskutiert.

## 2 Material und Methode

### 2.1 Enzymkinetik

Enzyme senken die freie Aktivierungsenthalpie und ermöglichen den Reaktionsbeginn enzymabhängiger Systeme (Berg et al. 2003). Michaelis und Menten beschreiben die Abhängigkeit der Geschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion von der Substratkonzentration. Die Geschwindigkeit nimmt mit der Substratkonzentration zu, bis eine Sättigung eintritt und die maximale Reaktionsgeschwindigkeit  $V_{\max}$  erreicht ist. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit ist spezifisch für jedes Enzym. Die Substratkonzentration, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit  $V$  die Hälfte von  $V_{\max}$  beträgt, wird als Michaelis-Menten-Konstante  $K_M$  bezeichnet (siehe Abbildung 3).

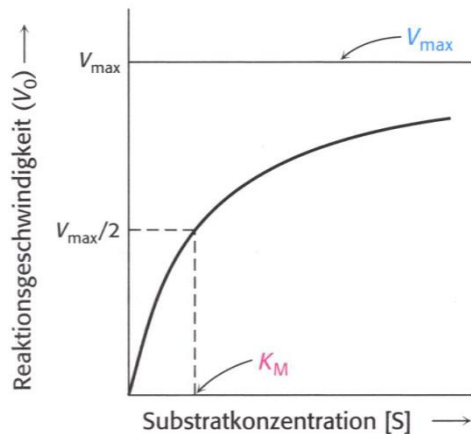


Abbildung 3: Michaelis-Menten-Kinetik.

(Berg et al. 2003)

Durch die Umformung der hyperbolischen Kurve in eine doppelt reziproke Darstellung können die Michaelis-Menten-Konstante  $K_M$  und die Maximalgeschwindigkeit  $V_{\max}$  graphisch bestimmt werden. Diese Darstellung wird Lineweaver-Burk-Diagramm genannt (siehe Abbildung 4). Im Lineweaver-Burk-Diagramm ist die Steigung der Geraden der Quotient aus  $K_M$  und  $V_{\max}$ . Der Schnittpunkt mit der y-Achse bezeichnet  $1/V_{\max}$  und der Schnittpunkt mit der x-Achse  $-1/K_M$  (Berg et al. 2003).

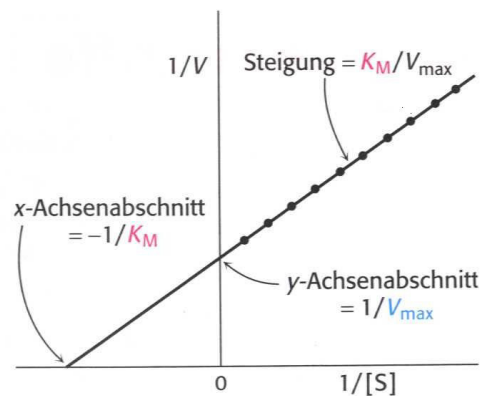


Abbildung 4: Lineweaver-Burk-Diagramm.

(Berg et al. 2003)

Eine enzymatische Reaktion kann durch verschiedene Substanzen verstärkt bzw. inhibiert werden. Bezüglich der Enzymhemmung existieren verschiedene Mechanismen.

Bei einer kompetitiven Hemmung konkurriert der Inhibitor mit dem Substrat um die Substratbindungsstelle des aktiven Zentrums des Enzyms. Er wird dabei nicht umgesetzt und kann dadurch vom Substrat erneut verdrängt werden. Bei einer kompetitiven Hemmung bleibt  $V_{\max}$  konstant, während sich  $K_M$  verändert.

Bei einer nichtkompetitiven Hemmung bindet der Inhibitor nicht an das aktive Zentrum des Enzyms, sondern lagert sich an eine allosterische Position im Molekül an. Die Bindung des Inhibitors an ein allosterisches Zentrum verursacht eine Konformationsänderung innerhalb des aktiven Zentrums, die zur Inaktivierung des Enzyms führt. Es kommt nicht zur Blockierung der Substratbindung. Die Bindung des nichtkompetitiven Enzymhemmers und die Inaktivierung des Enzyms finden unabhängig von Vorhandensein eines Substrates statt. Die Maximalgeschwindigkeit  $V_{\max}$  sinkt um einen Inhibitorspezifischen Faktor  $1/i$ , die Reaktionsgeschwindigkeit sinkt ebenfalls, die Michaelis-Menten-Konstante bleibt jedoch unbeeinflusst (siehe Abbildung 5) (Berg et al. 2003).



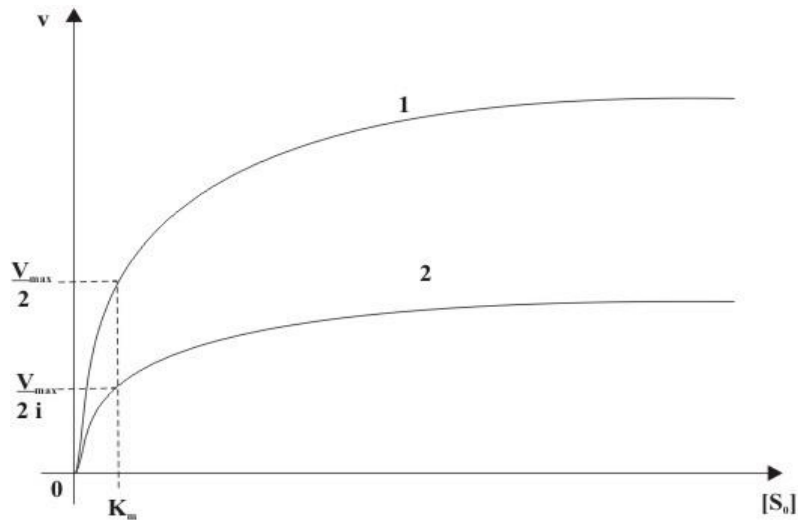


Abbildung 5: Michaelis-Menten-Darstellung einer nichtkompetitiven Hemmung.

Abhängigkeit der Anfangsgeschwindigkeit  $v$  von der Ausgangssubstratkonzentration mit (2) und ohne (1) Inhibitorzugabe (Berg et al. 2003)

Da die Michaelis-Menten-Konstante bei einer nichtkompetitiven Hemmung unverändert bleibt, führt diese in den Lineweaver-Burk-Diagrammen zu Geraden mit einem gemeinsamen Schnittpunkt im negativen Bereich auf der Abszisse. Dies stellt sich dies wie in Abbildung 6 dar. Gerade 1 repräsentiert dabei die ungehemmte Reaktion, Gerade 2 die mittlere Hemmung und Gerade 3 die stärkste Hemmung. Dementsprechend sinkt die Maximalgeschwindigkeit der Reaktion von  $V_{\max}$  über  $V_{\max}/i_2$  auf  $V_{\max}/i_3$ .

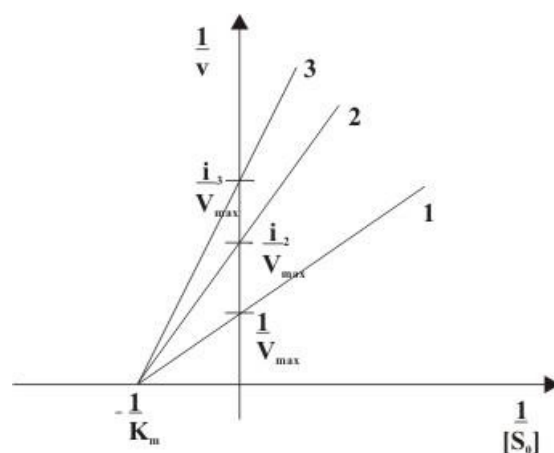


Abbildung 6: Lineare Darstellung einer nichtkompetitiven Hemmung in Anwesenheit unterschiedlicher Inhibitorkonzentrationen (Lineweaver-Burk).

(Berg et al. 2003)

## 2.2 Anthocyane und Referenzsubstanzen

In der vorliegenden Arbeit wurde die CYP2C9-Enzymaktivitätshemmung der folgenden fünf Anthocyane untersucht: Cyanidin, Ideain (Cyanidin-3-O-galactosid), Kuromanin (Cyanidin-3-O-glucosid), Keracyanin (Cyanidin-3-O-rutinosid) und Cyanin (Cyanidin-3,5-di-O-glucosid). Cyanidin ist ein Aglykon. Ideain und Kuromanin weisen an derselben Position im Molekül jeweils einen Zuckersubstituenten auf. Bei Ideain handelt es sich um Galctose und bei Kuromanin handelt es sich um Glucose. Keracyanin und Cyanin stellen Anthocyanine mit zwei Zuckerresten dar. Diese liegen im Falle von Keracyanin als Disaccarid vor und sind, im Falle von Cyanin im Molekül voneinander unabhängig (siehe Tabelle 3). Die Testsubstanzen wurden von der Firma Extrasynthese (Genay, Frankreich) bezogen.

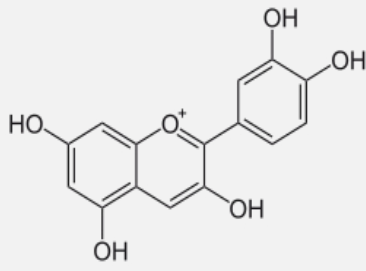
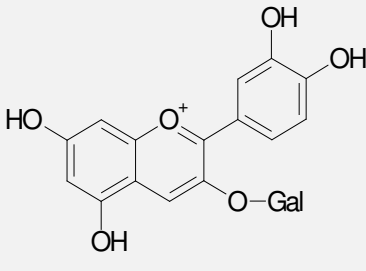
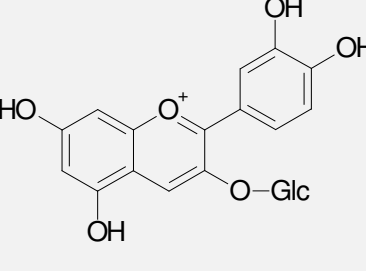
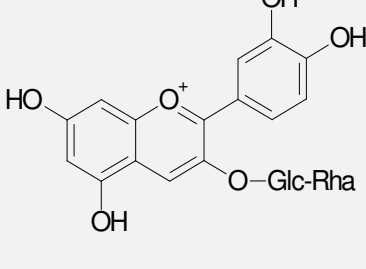
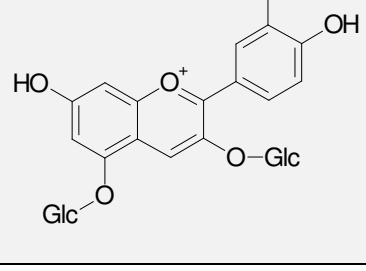
Für die CYP2C9-Enzymaktivitätshemmung wurden in Laborversuchen die jeweiligen halbmaximalen Hemmkonzentrationen  $IC_{50}$  und die jeweiligen Inhibitionskonstanten  $K_i$  der verschiedenen Anthocyane in Bezug auf das Cytochromisoenzym CYP2C9 ermittelt. Die halbmaximale Hemmkonzentration eines Hemmstoffs entspricht der für eine 50-prozentige Enzymhemmung notwendigen Inhibitorkonzentration. Die Inhibitionskonstante ist eine inhibitorspezifische Konstante, die ein Maß für die Bindungsaffinität an das Enzym darstellt. Je kleiner  $K_i$  ist, desto höher ist das Hemmpotential des Inhibitors. Die Inhibitionskonstante ist von den experimentellen Bedingungen weitgehend unabhängig, was den Vergleich zwischen unterschiedlichen Untersuchungen erlaubt (Riederer et al. 2013).

Alle Testsubstanzen wurden in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und die Lösung anschließend im Verhältnis 2:1 mit destilliertem Wasser verdünnt. Für die gewählten Anthocyane wurden jeweils die halbmaximale Hemmkonzentration und die Inhibitionskonstante ermittelt.

Um die Validität der Messungen zu zeigen, wurde ein Kontrollversuch mit einem bekannten CYP2C9-Inhibitor durchgeführt. Als Positivkontrolle wurde das Antibiotikum Sulfaphenazol in unterschiedlichen Konzentrationen verwendet. Die ermittelten Ergebnisse für die halbmaximalen Hemmkonzentration und die Inhibitionskonstante von Sulfaphenazol entsprachen den Erwartungen.

Die verwendeten Anthocyane wurden in UV-undurchlässigen Behältern bei -20 °C, Sulfaphenazol bei 4-7 °C und DMSO bei Raumtemperatur gelagert.

Tabelle 3: Strukturformeln der untersuchten Anthocyane.

Substanz	Strukturformel
<b>Cyanidin</b>	
<b>Cyanidin-3-O-galactosid (Ideain)</b>	
<b>Cyanidin-3-O-glucosid (Kuromanin)</b>	
<b>Cyanidin-3-O-rutinosid (Keracyanin)</b>	
<b>Cyanidin-3,5-di-O-glucosid (Cyanin)</b>	

### **2.3 Nachweis der CYP2C9-Enzymaktivität mittels eines Lichtsignals**

Der Nachweis der CYP2C9-Enzymaktivität erfolgte mit Hilfe des Substrats Luciferin-H. Das Enzym CYP2C9 katalysiert zunächst die Reaktion von Luciferin-H zu Leuchtkäfer-Luciferin (D-Luciferin). In einer weiteren Reaktion setzt das Enzym Luciferase das entstandene D-Luciferin zu Oxyluciferin um, wodurch ein Lichtsignal entsteht. Dieses Lichtsignal ist direkt proportional zur Menge des in der vorherigen Reaktion produzierten D-Luciferins und damit zur CYP2C9-Enzymaktivität.

Um den Einfluss der verschiedenen Anthocyane auf die CYP2C9-Enzymaktivität zu untersuchen, werden diese dem Enzym-Substrat-Mix in unterschiedlicher Konzentration zugegeben. Anthocyane hemmen die CYP2C9-abhängige Umsetzung von Luciferin-H zu D-Luciferin. Das Ausmaß der Enzyminhibition kann über die Abschwächung des Lichtsignals quantifiziert werden.

Zum Nachweis der CYP2C9-Enzymaktivität wurde das „P450-Glo™ Screening System“ von Promega (Mannheim, Deutschland) eingesetzt (Cali et al. 2006). Der isoenzymspezifische Assay verwendet Membran-Präparationen aus Baculovirus-transfizierten Insektenzellen. Als Negativkontrolle dienen Membranen ohne Cytochrom P450-Aktivität, die aus Baculovirus-transfizierten Wildtyp-Insektenzellen stammen (Promega Corporation 2007). Die Bedingungen des Assays leiten sich aus früheren Arbeiten ab (Phillips & Shephard 1998; Miller et al. 2000). Die Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt und an den Vorgaben des Herstellers ausgerichtet.

Das von der Firma Promega gelieferte „CYP2C9 Screening System“ bestand aus dem „P450-Glo™ CYP2C9 Assay“ und dem „CYP2C9 Enzym System“.

Der „P450-Glo™ CYP2C9 Assay“ beinhaltet das Substrat Luciferin-H (5 mM) sowie das gefriergetrocknete „Luciferin Detection Reagent“ zum Abstoppen der Reaktion und einen P450 Glo™-Puffer. Das „Luciferin Detection Reagent“ wurde in P450-Glo™-Puffer gelöst. Das „CYP2C9 Enzym System“ enthielt die CYP2C9-Membranen, die sich aus P450-Reduktase, Cytochrom b 5 und dem rekombinanten humanen CYP2C9-Enzym (1 pmol/μl, Gesamtproteinkonzentration 2,5 mg/ml) zusammensetzten und die Kontrollmembranen ohne Cytochrom P450-Enzymaktivität (Gesamtproteinkonzentration 5 mg/ml) sowie luciferinfreies Wasser, Kaliumphosphat-Puffer (1 M; pH 7,4) und die Lösungen A und B des „NADPH Regeneration Systems“. Lösung A des „NADPH Regeneration Systems“ enthielt NADP<sup>+</sup> (26 mM), Glukose-6-Phosphat (66

mM) und Magnesiumchlorid  $\text{MgCl}_2$  (66 mM). Lösung B des „NADPH Regeneration Systems“ enthielt Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (40 U/l) und Natriumcitrat (5 mM, pH 5,5).

Alle Bestandteile des „CYP2C9 Screening Systems“ lagen in flüssiger Form vor. Um eine Aktivitätsminderung der Anthocyane bzw. der CYP2C9-Membranen und der Kontrollmembranen durch mehrfaches Einfrieren und Auftauen zu verhindern, wurden diese in kleinere Aliquots aufgeteilt und bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , bzw. bei  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

### **Schritt 1:**

Zunächst wurden die in DMSO gelösten Testsubstanzen, bzw. DMSO ohne Testsubstanz zusammen mit luciferinfreiem Wasser in die Vertiefungen einer 96 Well Mikrotiterplatte pipettiert:

### **Inhibitorlösung:**

- luciferinfreies Wasser 11,5  $\mu\text{l}$
- Anthocyane x mM in DMSO bzw. DMSO ohne Anthocyane 1,0  $\mu\text{l}$

---

**12,5  $\mu\text{l}$**

Dabei wurden im Versuch zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration folgende Konzentrationen x der Anthocyanlösung in DMSO benutzt:

Tabelle 4: Zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration verwendete Anthocyankonzentrationen.

Testsubstanz	Konzentration [mM]							
Cyanidin	0,1		0,5	1	2	10	20	
Ideain		0,25	0,5		2	10	20	
Kuromanin		0,25		1	2	10	20	
Keracyanin		0,25		1	2	10	20	
Cyanin				1	2	10	20	33,3

Im Versuch zur Bestimmung der Inhibitionskonstante wurden folgende

Konzentrationen x der Anthocyanlösung in DMSO benutzt:

Tabelle 5: Zur Bestimmung der Inhibitionskonstante verwendete Anthocyankonzentrationen.

Testsubstanz	Konzentration [mM]						
	0,1	0,5	1				
Cyanidin							
Ideain			1	2		10	
Kuromanin			1	2		10	
Keracyanin				2	5	10	
Cyanin				2		10	20

### **Schritt 2:**

Im nächsten Schritt wurde die „CYP2C9 Reaction Mixture“ in einem Volumen von 12,5 µl hinzugefügt:

#### **Zusammensetzung der „CYP2C9 Reaction Mixture“ pro Reaktionsansatz für den Versuch zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration:**

- luciferinfreies Wasser	9,75 µl
- 1 M Kaliumphosphat-Puffer	1,25 µl
- 5 mM Luciferin-H	1,0 µl
- CYP2C9-Membran	0,5 µl

---

**12,5 µl**

#### **Zusammensetzung der „CYP2C9 Reaction Mixture“ pro Reaktionsansatz für den Versuch zur Bestimmung der Inhibitionskonstante:**

- luciferinfreies Wasser	6,75 µl
- 1 M Kaliumphosphat-Puffer	1,25 µl
- 5 mM Luciferin-H-Citrat-Mixture	4,0 µl
- CYP2C9-Membran	0,5 µl

---

**12,5 µl**

Die „Reaction Mixture“ wurde bis zu Reaktionsbeginn auf Eis gelagert, um einen Aktivitätsverlust des CYP2C9-Isoenzym zu vermeiden. Der enthaltene Kaliumphosphat-Puffer diente zur Stabilisierung des pH-Werts bei 7,4 +/- 0,1.

Das Substrat Luciferin-H lag in den Versuchen zur Bestimmung der Inhibitionskonstante in unterschiedlichen Mengen vor (0,25 µl, 0,5 µl, 1 µl, 2 µl und 4 µl). Um eine einheitliche Gesamtmenge von 12,5 µl pro Vertiefung zu erreichen, wurde der „CYP2C9 Reaction Mixture“ Citrat in unterschiedlichen Mengen (3,75 µl, 3,5 µl, 3 µl, 2 µl, und 0 µl) zugeführt. Citrat war zuvor in Wasser gelöst worden und lag in einer Konzentration von 1,271 mg/ml vor. Zusammen ergibt sich mit dem Substrat Luciferin-H 4,0 µl Luciferin-H-Citrat-Mixture.

Die Aufbewahrung der „Reaction Mixture“ erfolgte bei 4-7 °C im Kühlschrank. Der Reaktionsansatz wurde in den Versuchen zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration und der Inhibitionskonstante für jeweils zehn Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

### **Schritt 3:**

Die enzymatische Reaktion wurde durch das Einbringen von 25 µl „NADPH Regeneration System“ gestartet:

#### **„CYP2C9 NADPH Regeneration System“:**

- luciferinfreies Wasser	22,0 µl
- Lösung A	2,5 µl
- Lösung B	0,5 µl

---

**25,0 µl**

Anschließend wurde im Versuch zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration für 30 Minuten bzw. im Versuch zur Bestimmung der Inhibitionskonstante für 40 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Cytochrom P450-Reaktion wird durch das „NADPH Regeneration System“ uneingeschränkt mit NADPH versorgt, das als Elektronenquelle für Oxidierungen dient. Durch die enthaltene Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase wird eine kontinuierliche

Neusynthese von NADPH auch dann gewährleistet, wenn die Anthocyane eine Neusynthese hemmen sollten (siehe Abbildung 7, Promega Corporation 2007).

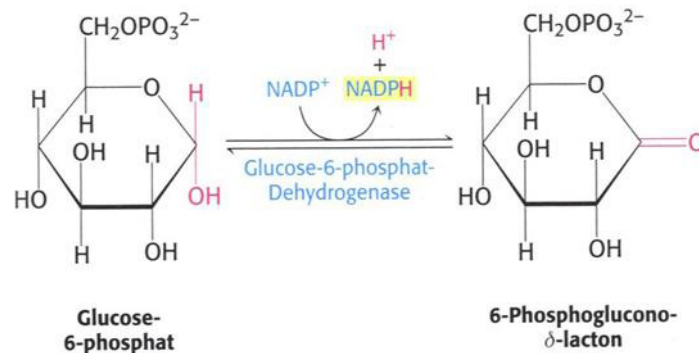


Abbildung 7: NADPH-Neusynthese durch Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase.  
(Berg et al. 2003)

Durch die einsetzende Bereitstellung von NADPH wandelt CYP2C9 in einer Hydroxylierungsreaktion Luciferin-H zu D-Luciferin um (siehe Abbildung 8).

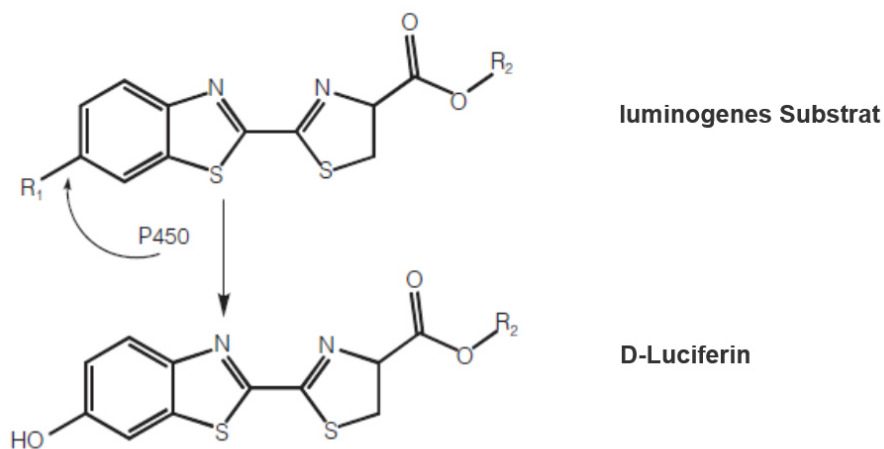


Abbildung 8: Umwandlung des luminogenen Substrats zu D-Luciferin durch das Cytochrom P450-Isoenzym.  
(Cali et al. 2005)

#### **Schritt 4:**

Die Zugabe von 50  $\mu\text{l}$  „Luciferin Detection Reagent“ beendete die Cytochrom P450-Reaktion. In Gegenwart von Adenosintriphosphat (ATP), Magnesium und Sauerstoff katalysierte die Leuchtkäfer-Luciferase zudem die oxidative Decarboxylierung von D-



Luciferin. Dabei entstand Oxyluciferin und ein gelbgrünes Lichtsignal mit einer maximalen Wellenlänge von 560 nm (Berger et al. 2008, Contag et al. 1998, Gheysens & Gambhir 2005) (siehe Abbildung 9), welches sich im Versuch zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration nach einer Inkubationsphase von 20 Minuten bzw. im Versuch zur Bestimmung der Inhibitionskonstante nach einer Inkubationsphase von 30 Minuten stabilisierte. Das Lichtsignal wurde mittels eines Anthos Lucy 1 Mikroplatten Luminometers (Anthos Labtech, Salzburg, Österreich) in relativen Lichteinheiten (RLU) quantifiziert.

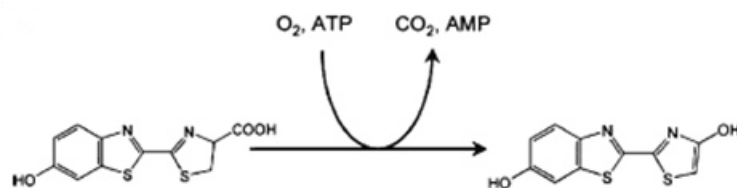


Abbildung 9: Luciferase-Reaktion: Umwandlung von D-Luciferin zu Oxyluciferin mit Entstehung eines stabilen Lichtsignals.

(Berger et al. 2008)

Die Menge des produzierten Lichts ist direkt proportional zur Konzentration von D-Luciferin, das in der Vorläufer-Reaktion entstanden ist (Worzella et al. 2004). Die Hemmung der CYP2C9-Enzymaktivität durch die Anthocyane kann anhand folgender Gleichung veranschaulicht werden:

$$\%A = 100 \times \left( \frac{A_I}{A_{DMSO}} \right)$$

Hierbei entspricht %A dem Prozentsatz an verbleibender Cytochrom P450-Aktivität nach Einwirkung der Testsubstanzen,  $A_I$  bezeichnet die Aktivität in Gegenwart eines Inhibitors und  $A_{DMSO}$  entspricht der Enzymaktivität ohne Inhibitor (Negativkontrolle).

## 2.4 Messung der CYP2C9-Enzymaktivität zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration

In der ersten Versuchsreihe wurde für jede der Testsubstanzen die halbmaximale Hemmkonzentration  $IC_{50}$  ermittelt. Die Versuchsdurchführung erfolgte bei Raumtemperatur und richtete sich nach den Vorgaben des Technischen Bulletins der Firma Promega (siehe Schritt 1 bis 4 in Abschnitt 2.3). Eine Hemmung des Enzyms CYP2C9 durch das Lösungsmittel DMSO, das als Negativkontrolle fungierte, konnte nicht festgestellt werden.

Die Anthocyane wurden in bis zu sechs verschiedenen Konzentrationen verwendet. Durch die Zugabe der Substanzen in Schritt 1 bis 4 in Abschnitt 2.3 ergaben sich für das Gesamtvolumen von 50  $\mu$ l pro Vertiefung folgende Anthocyankonzentrationen:

Tabelle 6: Anthocyankonzentrationen nach Zugabe aller Reagenzien zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration.

Testsubstanz	Konzentration [ $\mu$ M]							
Cyanidin	2		10	20	40	200	400	
Ideain		5	10		40	200	400	
Kuromanin		5		20	40	200	400	
Keracyanin		5		20	40	200	400	
Cyanin				20	40	200	400	666

Auf der Abszisse des Koordinatensystems wurden der Logarithmus der verwendeten Anthocyankonzentrationen aufgetragen, auf der Ordinate die gemessene CYP2C9-Aktivität in Prozent. Im Folgenden wurde mit Hilfe von Prism (V.4.00, GraphPad Software) mittels einer nichtlinearen Regression eine sigmoide Kurve durch die Messwerte gelegt. Von der sigmoiden Kurve konnte die halbmaximale Hemmkonzentration als Urbild des 50 %-Wertes an der Abszisse abgelesen werden. Zu den Ergebnissen, siehe Abschnitt 3.1.

## 2.5 Messung der CYP2C9-Enzymaktivität zur Bestimmung der Inhibitionskonstante

Für die fünf ausgewählten Anthocyane wurden neben den halbmaximalen Hemmkonzentrationen die Inhibitionskonstanten bestimmt (siehe Abschnitt 2.1). Der Zusammenhang der halbmaximalen Hemmkonzentration mit der Inhibitionskonstante stellt sich durch folgende Gleichung dar:

$$IC_{50} = K_i \left( 1 + \frac{[S]}{K_m} \right).$$

$K_i$  bezeichnet hierbei die Inhibitionskonstante,  $IC_{50}$  die halbmaximale Hemmkonzentration,  $[S]$  die Substratkonzentration, und  $K_M$  die Michaelis-Menten-Konstante. Dabei variiert die halbmaximale Hemmkonzentration abhängig von der verwendeten Substratkonzentration. Die Inhibitionskonstante wird nicht von der Substratkonzentration beeinflusst und ist daher mit anderen Assays besser vergleichbar.

Zu Beginn der Versuchsreihe zur Bestimmung der Inhibitionskonstante musste sichergestellt sein, dass sich das abgegebene Lichtsignal zur Quantifizierung der CYP2C9-Enzymaktivität eignet. Dies ist der Fall, wenn die Menge des produzierten Lichts direkt proportional zur Konzentration von D-Luciferin ist (Worzella et al. 2004). In niedrigsten Konzentrationsbereichen fiel das Lichtsignals allerdings schwächer als erwartet aus, so dass in diesem Konzentrationsbereich von einer unbeabsichtigten Enzymhemmung ausgegangen werden muss. Denkbar sind eine geringfügige CYP2C9-Enzyminhibition durch das Lösungsmittel DMSO, welche in höheren Konzentrationsbereichen nicht mehr signifikant ist, oder eine Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit, die die ursächlich ist für einen ungleichmäßigen Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit. Während der Versuchsdurchführung wurde deshalb darauf geachtet, das Enzym vorgewärmt zuzugeben.

Bei den Versuchen zur Bestimmung der Inhibitionskonstante wurde, abgesehen von geänderten Inkubationszeiten, analog zu den Versuchen zur Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration verfahren. Nach Zugabe aller Reagenzien lagen die fünf Anthocyane in folgenden Konzentrationen vor (siehe Schritte 1 bis 4 in Abschnitt 2.3):

Tabelle 7: Anthocyankonzentrationen nach Hinzugabe aller Reagenzien zur Bestimmung der Inhibitionskonstante.

Testsubstanz	Konzentration [ $\mu\text{M}$ ]						
Cyanidin	2	10	20				
Ideain			20	40		200	
Kuromanin			20	40		200	
Keracyanin				40	100	200	
Cyanin				40		200	400

### 3 Ergebnisse

Durch die Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration und der Inhibitionskonstante wurden die Auswirkungen von fünf Anthocyanen auf die Aktivität des Cytochrom P450-Enzyms CYP2C9 quantifiziert. Bei den Anthocyanen handelte es sich um das Aglykon Cyanidin und die vier Anthocyanine Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin.

#### 3.1 Halbmaximale Hemmkonzentrationen

Mittels laborchemischer Versuche wurden die halbmaximalen Hemmkonzentrationen der untersuchten Anthocyane in Bezug auf die CYP2C9-Enzymaktivität ermittelt (siehe Abschnitt 2.4). Die untersuchten Anthocyane bewirkten eine konzentrationsabhängige Abschwächung der Enzymaktivität des Cytochromenzyms CYP2C9. Der Abfall der CYP2C9-Aktivität wurde für alle Testsubstanzen mittels eines sigmoiden Kurvenmodells dargestellt. Die Messpunkte ergeben sich nach mehrfacher Bestimmung aus der Bestimmung der Mittelwerte. Zusätzlich wurden die jeweiligen Standardabweichungen angegeben.

##### 3.1.1 Halbmaximale Hemmkonzentration von Cyanidin

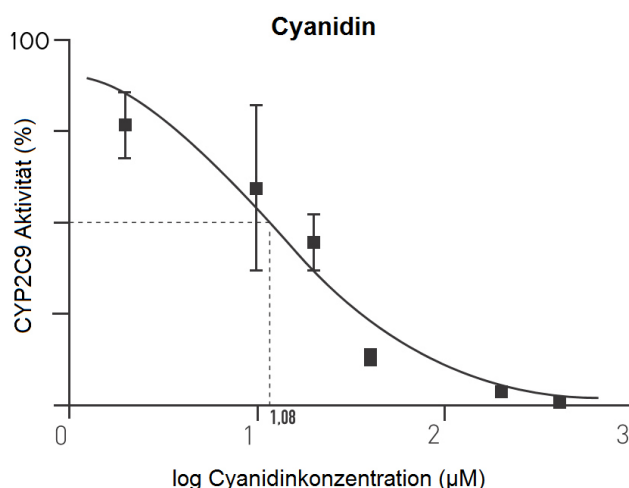


Abbildung 10: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Cyanidin.

Cyanidin wurde in den Konzentrationen 2, 10, 20, 40, 200 und 400 μM verwendet. Cyanidin hemmt bereits in geringer Konzentration die CYP2C9-Aktivität. Die

Enzymaktivitätshemmung steigt mit zunehmender Konzentration. Die halbmaximale Hemmkonzentration  $IC_{50}$  beträgt  $10^{1,08} \mu\text{M} = 12,02 \mu\text{M}$  (vgl. Abbildung 10).

### 3.1.2 Halbmaximale Hemmkonzentration von Ideain

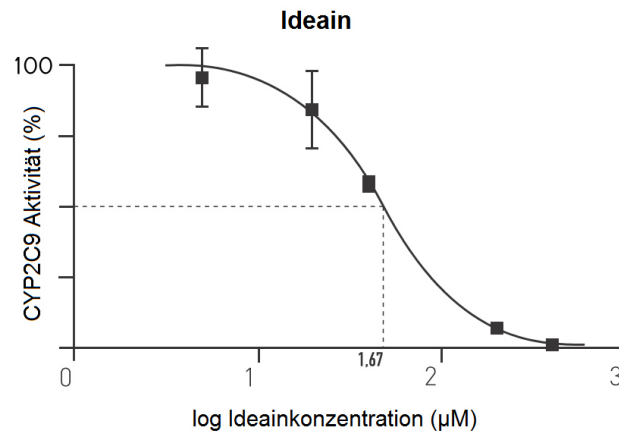


Abbildung 11: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Ideain.

Ideain (Cyanidin-3-O-galacosid) wurde in den Konzentrationen 5, 10, 40, 200 und 400  $\mu\text{M}$  verwendet. Das Anthocyan beeinflusst die CYP2C9-Aktivität in niedriger Konzentration nur geringfügig. Mit zunehmender Konzentration inhibiert Ideain in vitro das Cytochromisoenzym schließlich vollständig. Die halbmaximale Hemmkonzentration  $IC_{50}$  beträgt  $10^{1,67} \mu\text{M} = 46,77 \mu\text{M}$  (vgl. Abbildung 11).

### 3.1.3 Halbmaximale Hemmkonzentration von Kuromanin

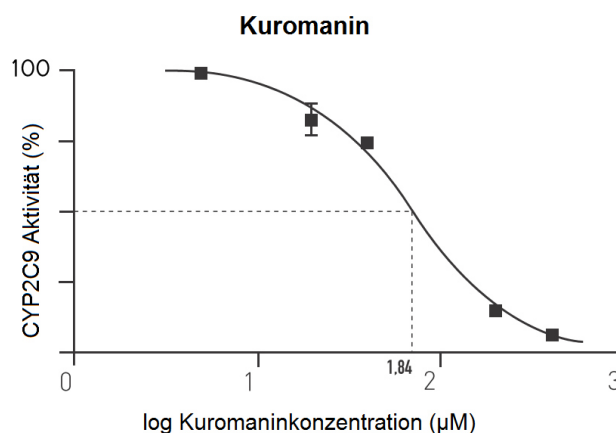


Abbildung 12: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Kuromanin.

Kuromanin (Cyanidin-3-O-glucosid) wurde in den Konzentrationen 5, 10, 40, 200 und 400  $\mu\text{M}$  verwendet. In niedriger Dosierung weist Kuromanin eine geringe inhibitorische Potenz in Hinblick auf das untersuchte Cytochromenzym 2C9 auf. In mehrfach erhöhter Konzentration bewirkt das Anthocyan eine starke CYP2C9-Hemmung. Die halbmaximale Hemmkonzentration  $\text{IC}_{50}$  beträgt  $10^{1,84} \mu\text{M} = 69,18 \mu\text{M}$  (vgl. Abbildung 12).

### 3.1.4 Halbmaximale Hemmkonzentration von Keracyanin

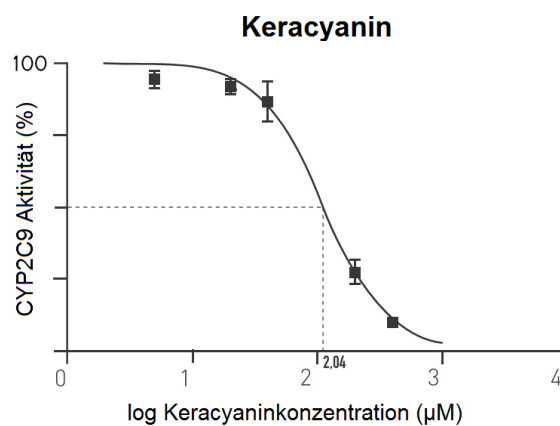


Abbildung 13: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Keracyanin.

Keracyanin (Cyanidin-3-O-rutinosid) wurde in den Konzentrationen 5, 20, 40, 200 und 400  $\mu\text{M}$  verwendet. Das Cytochromenzym CYP2C9 wird in den Konzentrationen 5, 20 und 40  $\mu\text{M}$  nur unwesentlich gehemmt, in einer Konzentration von 400  $\mu\text{M}$  hemmt Keracyanin die Enzymaktivität zu 90 Prozent. Die halbmaximale Hemmkonzentration  $\text{IC}_{50}$  beträgt  $10^{2,04} \mu\text{M} = 109,65 \mu\text{M}$  (vgl. Abbildung 13).

### 3.1.5 Halbmaximale Hemmkonzentration von Cyanin

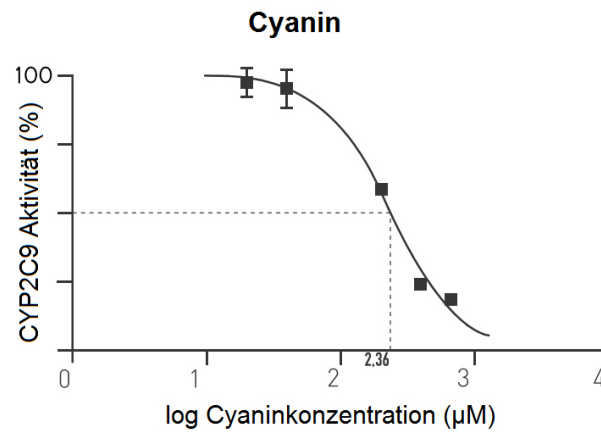


Abbildung 14: Konzentrationsabhängige Hemmung der CYP2C9-Aktivität durch Cyanin.

Cyanin (Cyanidin-3,5-di-O-glucosid) wurde in den Konzentrationen 20, 40, 200, 400 und 666 µM verwendet. Erst bei hoher Cyaninkonzentration wurde eine halbmaximale CYP2C9-Hemmung erreicht, weswegen zusätzlich eine Cyaninkonzentration von 666 µM verwendet wurde. Die halbmaximale Hemmkonzentration IC<sub>50</sub> beträgt  $10^{2,04}$  µM = 229,09 µM (vgl. Abbildung 14).



### 3.1.6 Überblick über die halbmaximalen Hemmkonzentrationen der untersuchten Anthocyane

Tabelle 8: Die halbmaximalen Hemmkonzentrationen der Anthocyane im Überblick.

Testsubstanz	Stoffgruppe	IC <sub>50</sub>	Vorkommen in der Natur
<b>Cyanidin</b>	Anthocyanidin	12,02 µM	Granatäpfel, Heidelbeeren, Blutorange, Rotkohl, Rhabarber, Kornblumen, Rosen, Hibiskus, Rotwein
<b>Cyanidin-3-O-galactosid (Ideain)</b>	Anthocyanidin-monoglycosid (Anthocyanin)	46,77 µM	Cranberries, Äpfel, Birnen, Beeren
<b>Cyanidin-3-O-glucosid (Kuromanin)</b>	Anthocyanidin-monoglucosid (Anthocyanin)	69,18 µM	Granatäpfel, Äpfel, Feigen, rote Zwiebeln, Holunder, Klatschmohn, Hibiskus, Rosen
<b>Cyanidin-3-O-rutinosid (Keracyanin)</b>	Anthocyanidin-monoglycosid (Anthocyanin)	109,65 µM	Schwarze Himbeeren, Oliven, Pflaumen, Schlehe,
<b>Cyanidin-3,5-di-O-glucosid (Cyanin)</b>	Anthocyanidin-diglucosid (Anthocyanin)	229,09 µM	Bohnen, Rotkohl

Tabelle 8 gibt einen Überblick über die verschiedenen Testsubstanzen mit ihren Inhibitionskonstanten.

### 3.2 Inhibitionskonstanten

Neben den halbmaximalen Hemmkonzentrationen wurden die Inhibitionskonstanten der untersuchten Anthocyane ermittelt (siehe Abschnitt 2.5). Alle Lichtsignalmessungen wurden für jedes Anthocyan in seiner jeweiligen Konzentration mehrfach durchgeführt. Aus den erhaltenen Messwerten wurden Mittelwerte gebildet.

Daraus ergaben sich asymptotische Kurven. Die doppelt reziproken Werte lieferten jeweils eine Gerade (Lineweaver-Burk-Diagramme). Die Geraden weisen einen gemeinsamen Schnittpunkt mit der Abszisse in  $-1/K_M$  auf. Für jede der Konzentrationen der Testsubstanzen wird die Steigung des Lineweaver-Burk-Diagramms in einem separaten Diagramm aufgetragen und eine Regressionsgerade bestimmt. Der Schnittpunkt dieser Gerade mit der Abszisse stellt den negativen  $K_i$ -Wert dar. Für das Lösungsmittel DMSO ergeben sich  $K_M$ -Werte zwischen 118, 49  $\mu\text{M}$  und 595,65  $\mu\text{M}$ .

### 3.2.1 Inhibitionskonstante von Cyanidin

Die verschiedenen Messpunkte in

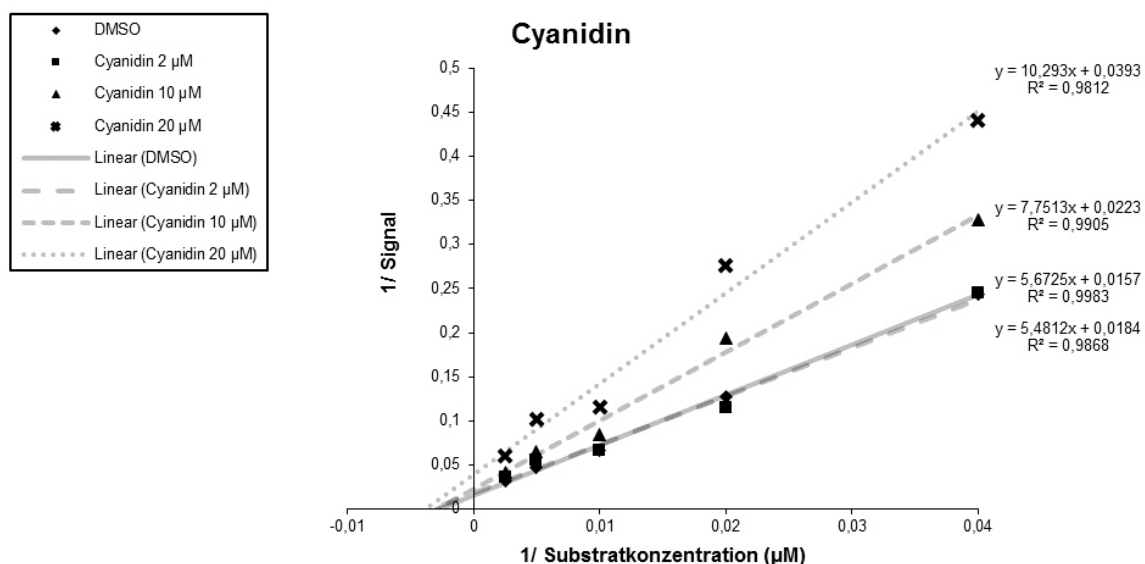


Abbildung 15 stellen die gemessenen Lichtsignale abhängig von der jeweiligen Substratkonzentration für Cyanidin in den Konzentrationen 2  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$  und für DMSO dar. Die vier Geraden bilden lineare Regressionsgeraden zu den Messpunkten der angegebenen Cyanidinkonzentrationen und DMSO. Anhand des Lineweaver-Burk-Diagramms ist ersichtlich, dass Cyanidin einen nichtkompetitiven Inhibitor des Cytochromenzym CYP2C9 darstellt (vgl. dazu Abbildung 6).

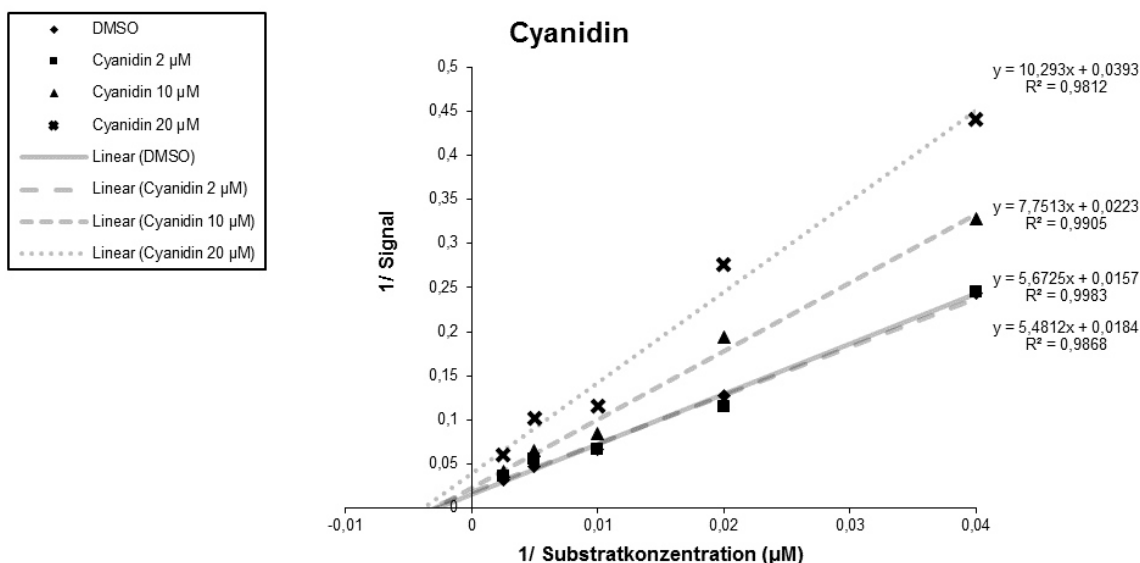


Abbildung 15: Lineweaver-Burk-Diagramm für Cyanidin in einer Konzentration von 2 µM, 10 µM und 20 µM sowie für DMSO.

Aus Abbildung 16 ergibt sich ein  $K_i$ -Wert für Cyanidin in Höhe von 21,80 µM.

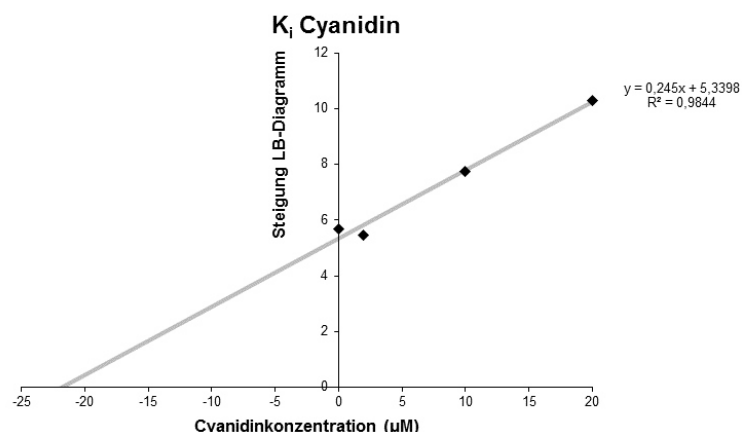


Abbildung 16: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Cyanidin.

### 3.2.2 Inhibitionskonstante von Ideain

Die verschiedenen Messpunkte in Abbildung 17 stellen die gemessenen Lichtsignale abhängig von der jeweiligen Substratkonzentration für Ideain in den Konzentrationen 20 µM, 40 µM, 200 µM und für DMSO dar. Die vier Geraden bilden lineare Regressionsgeraden zu den Messpunkten der angegebenen Ideainkonzentrationen und DMSO. Anhand des Lineweaver-Burk-Diagramms ist ersichtlich, dass Ideain

einen nichtkompetitiven Inhibitor des Cytochromenzym CYP2C9 darstellt (vgl. dazu Abbildung 6).

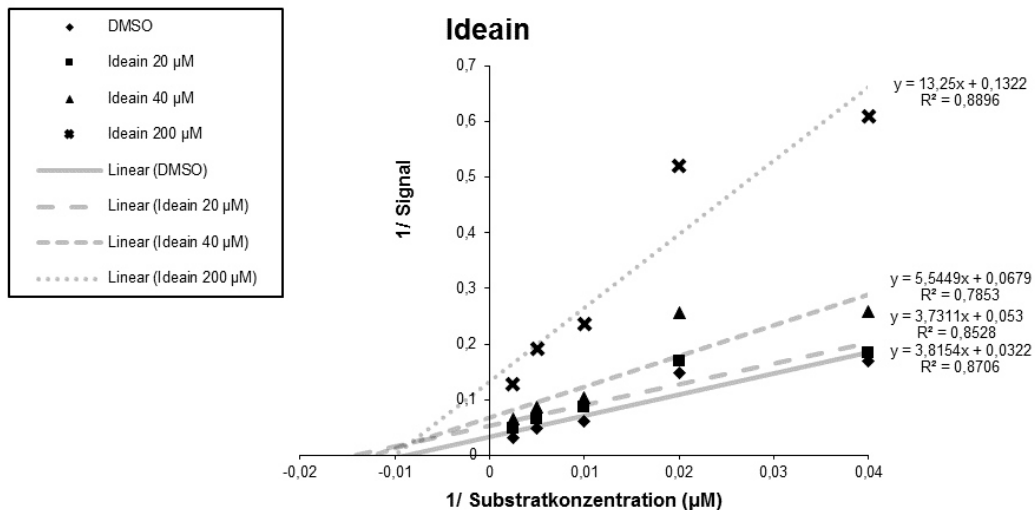


Abbildung 17: Lineweaver-Burk-Diagramm für Ideain in einer Konzentration von 20 µM, 40 µM und 200 µM sowie für DMSO

Aus Abbildung 18 ergibt sich ein  $K_i$ -Wert für Ideain in Höhe von 68,88 µM.

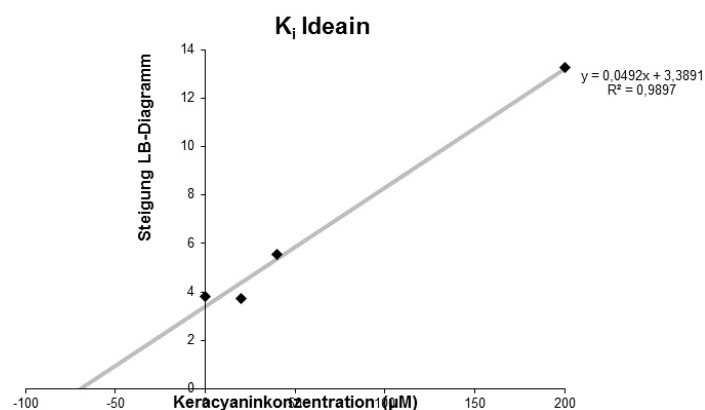


Abbildung 18: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Ideain.

### 3.2.3 Inhibitionskonstante von Kuromanin

Die verschiedenen Messpunkte in Abbildung 19 stellen die gemessenen Lichtsignale abhängig von der jeweiligen Substratkonzentration für Kuromanin in den Konzentrationen 20 µM, 40 µM, 200 µM und für DMSO dar. Die vier Geraden bilden

lineare Regressionsgeraden zu den Messpunkten der angegebenen Kuromaninkonzentrationen und DMSO. Anhand des Lineweaver-Burk-Diagramms ist ersichtlich, dass Kuromanin einen nichtkompetitiven Inhibitor des Cytochromenzym CYP2C9 darstellt (vgl. dazu Abbildung 6).

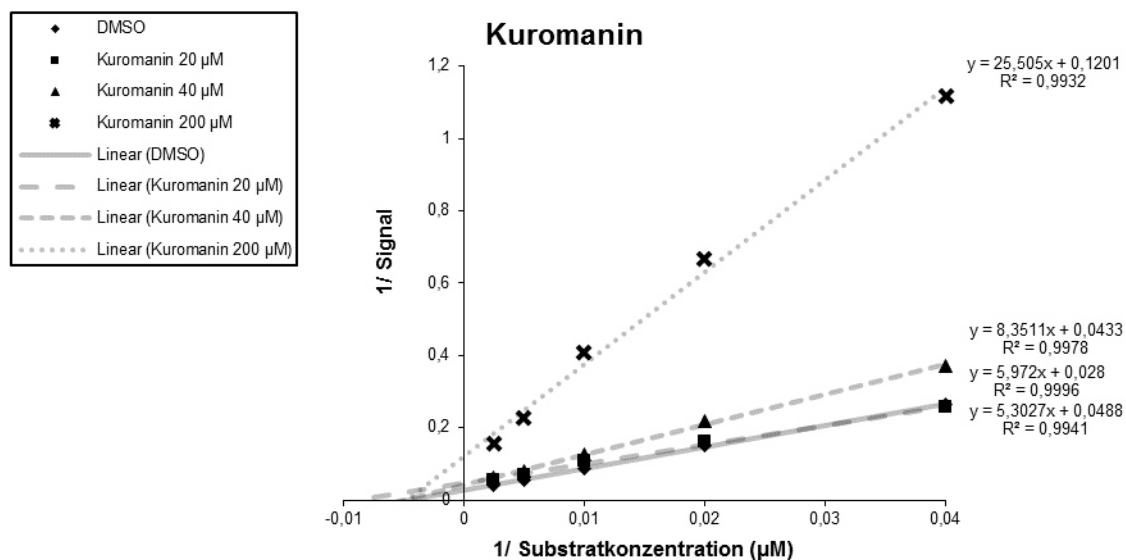


Abbildung 19: Lineweaver-Burk-Diagramm für Kuromanin in einer Konzentration von 20 µM, 40 µM und 200 µM sowie für DMSO.

Aus Abbildung 20 ergibt sich ein  $K_i$ -Wert für Kuromanin in Höhe von 43,60 µM.

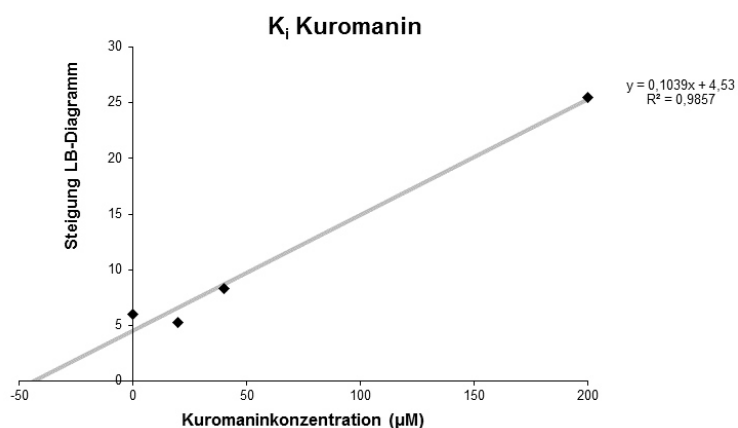


Abbildung 20: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Kuromanin.

### 3.2.4 Inhibitionskonstante von Keracyanin

Die verschiedenen Messpunkte in Abbildung 21 stellen die gemessenen Lichtsignale abhängig von der jeweiligen Substratkonzentration für Keracyanin in den Konzentrationen 40 µM, 100 µM, 200 µM und für DMSO dar. Die vier Geraden bilden lineare Regressionsgeraden zu den Messpunkten der angegebenen Keracyaninkonzentrationen und DMSO. Anhand des Lineweaver-Burk-Diagramms ist ersichtlich, dass Keracyanin einen nichtkompetitiven Inhibitor des Cytochromenzym CYP2C9 darstellt (vgl. dazu Abbildung 6).

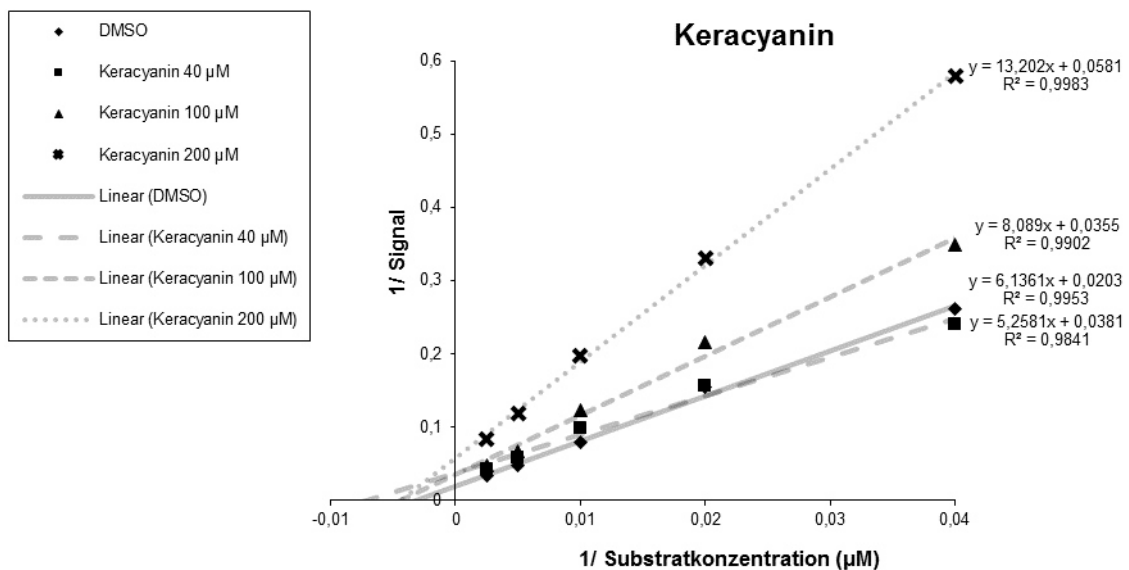


Abbildung 21: Lineweaver-Burk-Diagramm für Keracyanin in einer Konzentration von 40 µM, 100 µM und 200 µM sowie für DMSO

Aus Abbildung 22 ergibt sich ein  $K_i$ -Wert für Keracyanin in Höhe von 125,54 µM.

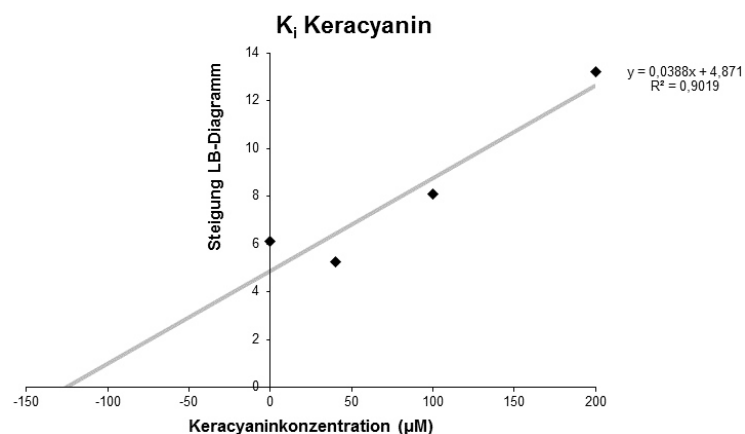


Abbildung 22: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Keracyanin.

### 3.2.5 Inhibitionskonstante von Cyanin

Die verschiedenen Messpunkte in Abbildung 23 stellen die gemessenen Lichtsignale abhängig von der jeweiligen Substratkonzentration für Cyanin in den Konzentrationen 40 µM, 200 µM, 400 µM und für DMSO dar. Die vier Geraden bilden lineare Regressionsgeraden zu den Messpunkten der angegebenen Keracyaninkonzentrationen und DMSO. Anhand des Lineweaver-Burk-Diagramms ist ersichtlich, dass Cyanin einen nichtkompetitiven Inhibitor des Cytochromenzym CYP2C9 darstellt (vgl. dazu Abbildung 6).

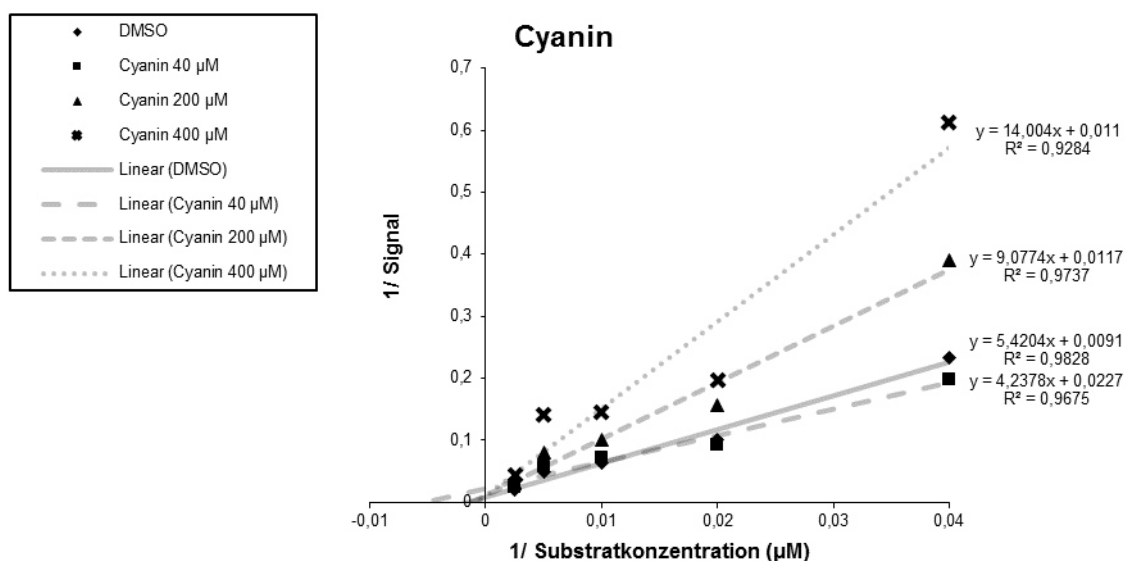


Abbildung 23: Lineweaver-Burk-Diagramm für Cyanin in einer Konzentration von 40 µM, 200 µM und 400 µM sowie für DMSO.

Aus Abbildung 24 ergibt sich ein  $K_i$ -Wert für Cyanin in Höhe von 185,54  $\mu\text{M}$ .

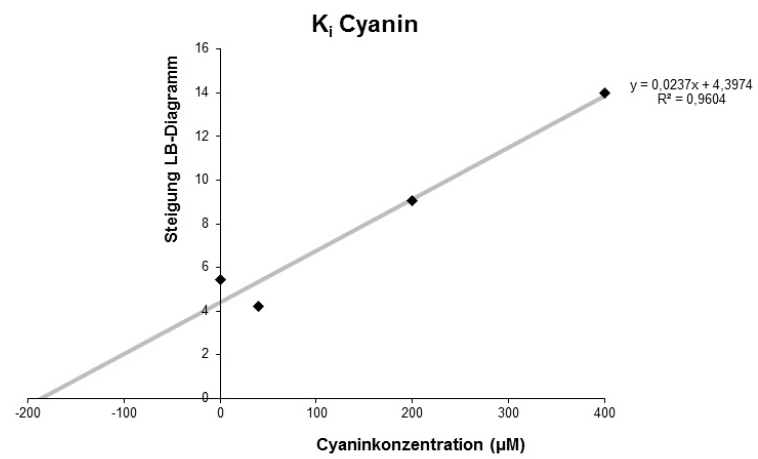


Abbildung 24: Gerade zur Bestimmung der Inhibitionskonstante von Cyanin.



### 3.2.6 Überblick über die Inhibitionskonstanten der untersuchten Anthocyane

Tabelle 9: Die Inhibitionskonstanten der Anthocyane im Überblick.

Testsubstanz	Stoffgruppe	K <sub>i</sub>	Vorkommen in der Natur
<b>Cyanidin</b>	Anthocyanidin	21,08 µM	Granatäpfel, Heidelbeeren, Blutorange, Rotkohl, Rhabarber, Kornblumen, Rosen, Hibiskus, Rotwein
<b>Cyanidin-3-O-galactosid (Ideain)</b>	Anthocyanidin-monoglycosid (Anthocyanin)	68,88 µM	Cranberries, Äpfel, Birnen, Beeren
<b>Cyanidin-3-O-glucosid (Kuromanin)</b>	Anthocyanidin-monoglucosid (Anthocyanin)	43,60 µM	Granatäpfel, Äpfel, Feigen, rote Zwiebeln, Holunder, Klatschmohn, Hibiskus, Rosen
<b>Cyanidin-3-O-rutinosid (Keracyanin)</b>	Anthocyanidin-monoglycosid (Anthocyanin)	125,54 µM	Himbeeren, Oliven, Pflaumen, Schlehe
<b>Cyanidin-3,5-di-O-glucosid (Cyanin)</b>	Anthocyanidin-diglucosid (Anthocyanin)	185,54 µM	Bohnen, Rotkohl

Tabelle 9 gibt einen Überblick über die verschiedenen Testsubstanzen mit ihren Inhibitionskonstanten.

## **4 Diskussion der Ergebnisse und retrospektive Studienanalyse**

### **4.1 Diskussion der Ergebnisse der Lumineszenz-Assays**

In den durchgeführten Laborversuchen wurde eine konzentrationsabhängige CYP2C9-Aktivitätshemmung durch die untersuchten Anthocyane beobachtet. Für die jeweiligen Anthocyane wurden halbmaximale Hemmkonzentrationen zwischen 12,02  $\mu\text{M}$  und 229,09  $\mu\text{M}$  und Inhibitionskonstanten zwischen 21,80  $\mu\text{M}$  und 185,54  $\mu\text{M}$  ermittelt (siehe Abschnitte 3.1 und 3.2).

#### **4.1.1 Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung der halbmaximalen Hemmkonzentration**

Gemäß den Versuchsergebnissen ist Cyanidin der stärkste CYP2C9-Inhibitor der Testreihe ( $\text{IC}_{50} = 12,02 \mu\text{M}$ ), gefolgt von Ideain (Cyanidin-3-O-galactosid) ( $\text{IC}_{50} = 46,77 \mu\text{M}$ ), Kuromanin (Cyanidin-3-O-glucosid) ( $\text{IC}_{50} = 69,18 \mu\text{M}$ ), Keracyanin (Cyanidin-3-O-rutinosid) ( $\text{IC}_{50} = 109,65 \mu\text{M}$ ) und Cyanin (Cyanidin-3,5-di-O-glucosid) ( $\text{IC}_{50} = 229,09 \mu\text{M}$ ) (vgl. Tabelle 8).

Dabei scheint die Anzahl der Zuckersubstituenten mit der Enzymhemmung in Zusammenhang zu stehen. Cyanidin besitzt keinen Zuckersubstituenten. Ideain, und Kuromanin haben jeweils einen Zuckerrest. Dieser befindet sich jeweils an Position 3 des C-Ring. Im Molekül Kuromanin handelt es sich um Glukose und im Molekül Ideain um Galaktose. Das Ausmaß ihrer CYP2C9-Inhibition ist ähnlich. Keracyanin und Cyanin besitzen jeweils zwei Zuckersubstituenten. Bei Keracyanin handelt es sich an Position 3 des C-Rings um das Disaccharid Rutinosid, das sich aus Glucose und Rhamnose zusammensetzt. Cyanin weist strukturell voneinander unabhängig an Position 3 des C-Rings und an Position 5 des A-Rings jeweils ein Glucosemolekül auf. Die halbmaximale Hemmkonzentration von Keracyanin bezogen auf das Enzym CYP2C9 beträgt 109,65  $\mu\text{M}$ , die halbmaximale Hemmkonzentration von Cyanin beträgt hingegen 229,09  $\mu\text{M}$ . Cyanin ist verglichen mit Keracyanin ein deutlich schwächerer Enzyminhibitor. Gemäß den hier gefundenen Resultaten wird davon ausgegangen, dass die enzyminhibitorische Potenz durch die Existenz von Zuckersubstituenten im Anthocyanmolekül herabgesetzt wird. Die Enzymhemmung

scheint mit der Anzahl der Zuckerreste zu sinken. Darüber hinaus hängt sie vermutlich von der Anordnung der Mono- und Disaccharide im Molekül ab. Ob es sich bei dem Zuckersubstituenten um die Monosaccharide Glucose bzw. Galactose handelt, scheint sich im Falle der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Anthocyane nicht wesentlich auf die halbmaximale Hemmkonzentration oder die Inhibitionskonstante auszuwirken. Diese Beurteilung unterliegt gewissen Einschränkungen, da in der vorliegenden Arbeit keine molekulare Modellierung vorgenommen wurde. Dementsprechend sind für eine sichere Aussage zu möglichen Struktur-Wirkungsbeziehungen weitere Untersuchungen vonnöten. Dass sich die Glykosylierung der Anthocyane auf das Ausmaß von Enzymhemmungen auswirkt, konnte jedoch auch in anderen Arbeiten für die Enzyme CYP3A4, CYP2D6 und CYP2C19 festgestellt werden (Dreiseitel et al. 2008, Dreiseitel et al. 2009). Für das Cytochromenzym CYP1A2 konnte dies nicht gezeigt werden (Sand et al. 2009).

Um die Hemmstärke der untersuchten Anthocyane einordnen zu können werden im Folgenden Untersuchungsergebnisse aus anderen Studien dargelegt. Jin et al. 2016 analysierten die enzyminhibitorische Potenz traditioneller koreanischer Pflanzenpräparate (Bangpungdongseong, Ojeok-san und Oyaksungi-san). Die halbmaximalen Hemmkonzentrationen von jeweils 740  $\mu\text{M}$ , 868  $\mu\text{M}$  und bis über 1000  $\mu\text{M}$  weisen auf eine schwächere Enzymhemmung der Testsubstanzen in Bezug auf die Aktivität von CYP2C9 hin. Für die Inhaltsstoffe von Johanniskraut Hypericin, I3,I18-Biapigenin, Hyperforin und Quercetin wurden halbmaximale Hemmkonzentrationen von 3,4  $\mu\text{M}$ , 4,0  $\mu\text{M}$ , 4,4  $\mu\text{M}$  und 47  $\mu\text{M}$  ermittelt (Obach 2000). Hypericin, I3,I18-Biapigenin und Hyperforin sind demzufolge stärkere CYP2C9-Inhibitoren als die untersuchten Anthocyane. Quercetin besitzt eine ähnliche inhibitorische Potenz wie Ideain. Ein bekannter CYP2C9-Hemmer ist das Antibiotikum Ciprofloxacin, für welches bei Zhang et al. 2008 eine halbmaximale Hemmkonzentration von 180  $\mu\text{M}$  gemessen wurde. Es ist im Vergleich zu den hier untersuchten Anthocyanen mit Ausnahme von Cyanin ein schwächerer Inhibitor des Isoenzym CYP2C9.

Es ist jedoch zu beachten, dass die in anderen Versuchen ermittelten halbmaximalen Hemmkonzentrationen nicht uneingeschränkt mit den Ergebnissen dieser Arbeit verglichen werden können, da unterschiedliche Assaybedingungen und insbesondere abweichende Substratkonzentrationen andere Resultate liefern können (Walsky &

Obach 2004).

#### **4.1.2 Diskussion der Ergebnisse der Bestimmung der Inhibitionskonstanten**

Um die Effizienz eines Enzyminhibitors zu quantifizieren, kann neben der halbmaximalen Hemmkonzentration seine Inhibitionskonstante bestimmt werden. Die Inhibitionskonstante eignet sich zum Vergleich mit anderen Versuchen, da sie von der Substratkonzentration unabhängig ist. Je kleiner die experimentell bestimmte Inhibitionskonstante einer Substanz ist, desto höher ist ihre enzymatische Hemmstärke.

Für Cyanidin wurde die niedrigste Inhibitionskonstante gemessen ( $K_i = 21,80 \mu\text{M}$ ), gefolgt von Kuromanin ( $K_i = 43,6 \mu\text{M}$ ), Ideain ( $K_i = 68,88 \mu\text{M}$ ) und Keracyanin ( $K_i = 125,54 \mu\text{M}$ ). Für Cyanidin-3,5-di-O-glucosid (Cyanin) wurde die höchste Inhibitionskonstante und damit die schwächste Enzymhemmung ermittelt ( $K_i = 185,54 \mu\text{M}$ ) (siehe Tabelle 9).

Um die ermittelte Enzymhemmung einordnen zu können, werden im Folgenden die Enzymhemmungen anderer Stoffe angegeben. Bei Savai et al. 2015 lag die Inhibitionskonstante der Pflanze *Centella asiatica* in Bezug zum Cytochromenzym CYP2C9 bei  $23,89 \mu\text{M}$ . Die Pflanze aus der Familie der Doldenblütler enthält unter anderem Triterpene, Flavonolglucoside sowie die Flavonoide Quercetin und Kämpferol (Zheng & Qin 2007). Schmider et al. 1997 ermittelten bezüglich des Enzyms CYP2C9 Inhibitionskonstanten von  $6 \mu\text{M}$  für Fluvoxamin,  $13 \mu\text{M}$  für Fluoxetin,  $17 \mu\text{M}$  für Norfluoxetin,  $33 \mu\text{M}$  für Sertralin,  $35 \mu\text{M}$  für Paroxetin und  $66 \mu\text{M}$  für Desmethylertralin. Fluvoxamin und Fluoxetin sind damit stärkere CYP2C9-Inhibitoren als alle in dieser Arbeit untersuchten Anthocyane, während Norfluoxetin eine ähnlich starke CYP2C9-Enzymaktivitätshemmung aufweist wie Cyanidin. Die Inhibitionskonstanten der Stoffe Hypericin, I3,II8-Biapiogenin und Hyperforin in Bezug auf die CYP2C9-Aktivität lagen bei  $1,4 \mu\text{M}$ ,  $0,32 \mu\text{M}$  und  $1,8 \mu\text{M}$  (Obach 2000).

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Anthocyane sind ausnahmslos nichtkompetitive Enzyminhibitoren (vgl. Abschnitt 2.1 und Kapitel 3). Neben Cyanin, Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin gehören unter anderem sowohl sekundären Pflanzeninhaltsstoffe wie 6-Hydroxyflavon und Isothiocyanat als auch Medikamente wie Nifedipin, Tranylcypromin, Clotrimazol, Ketoconazol und Itraconazol

zu den nichtkompetitiv wirkenden Inhibitoren von CYP2C9 (Bourri  et al. 1999, Salsali et al. 2004, Si et al. 2009, Unger 2004).

Der Gro te il der durch sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe und Arzneimittel induzierten CYP2C9-Enzymhemmung erfolgt jedoch vorwiegend über einen kompetitiven Mechanismus. Zu den kompetitiven Hemmstoffen zählen unter anderem einige Flavone (7-Hydroxyflavon, Chrysin, Baicalein, Apigenin, Luteolin, Scutellarein, und Wogonin) und Flavonole (Galangin, Fisetin, Kämpferol, Morin und Quercetin) sowie Arzneimittel wie Warfarin, Phenytoin, Tolbutamid, Vorikonazol oder Iguratimod (Freissmuth et al. 2015, Si et al. 2009, Unger 2004, Yamaori et al. 2015).

### **4.1.3 Auswirkungen von Inhibitoren auf den Medikamentenabbau**

Von den untersuchten Anthocyanen besitzt Cyanidin die stärkste in vitro ermittelte Inhibition der CYP2C9-Aktivität. Cyanidin ist unter anderem in Rotwein, Blutorangen, Granatäpfel, Heidelbeeren und Hibiskus enthalten (siehe Tabelle 9). Ideain, das beispielsweise in Cranberries zu finden ist, sowie Kuromanin, das unter anderem in Granatäpfeln, Holunder und Hibiskus vorkommt, weisen eine geringere CYP2C9-Aktivitätsminderung als Cyanidin auf, diese ist im Vergleich zu Cyanin jedoch immer noch relativ hoch. Bei den meisten in vitro getesteten Substanzen ist unklar, ob im Rahmen einer normalen Nahrungsaufnahme in vivo vergleichbare hepatische oder intestinale Konzentrationen erreicht werden.

Selbst wenn sichergestellt ist, dass genügend Anthocyane im Rahmen der Ernährung aufgenommen werden, stellt sich im nächsten Schritt die Frage nach der Bioverfügbarkeit, da anhand der Laborversuche gezeigt werden konnte, dass die Anthocyane Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin die CYP2C9-Aktivität erst in hohen Konzentrationen beeinflussen. Hier sollte auch berücksichtigt werden, ob die Anthocyane in ursprünglicher oder modifizierter Form, z.B. als erhitzte Lebensmittel, zugeführt werden, und ob gleichzeitig eine Aufnahme anderer Substanzen erfolgt, die eine Anthocyanresorption begünstigt oder erschwert.

Während durch die Aufnahme von Anthocyanen mit der täglichen Ernährung eine kritische Konzentration vielleicht nicht überschritten wird, könnte durch den Konsum hochkonzentrierter Nahrungsergänzungsmittel versehentlich eine zu hohe Anthocyanmenge aufgenommen werden. Insbesondere, wenn zusätzlich Arzneimittel

eingegenommen werden, die CYP2C9-enzymhemmende Eigenschaften aufweisen (wie z.B. die in Abschnitt 4.1.1 und 4.1.2 genannten Medikamente), könnte sich die kombinierte Enzyminhibition klinisch auswirken. Es bleibt zu eruieren, ob Nahrungsergänzungsmittel in dieser Form sinnvoll und sicher sind, oder ob ihre Einnahme mit erhöhter Vorsicht erfolgen sollte.

In Laborversuchen werden letztlich viele Faktoren außer Acht gelassen, die in klinischen Beobachtungen eine zentrale Rolle spielen, wie zum Beispiel das Alter und die Vorerkrankungen der Probanden sowie die Dosierung und Dauer der Einnahme der untersuchten Substanzen. Ausgehend von den in vitro ermittelten halbmaximalen Hemmkonzentrationen und Inhibitionskonstanten kann nicht automatisch auf Auswirkungen anthocyanhaltiger Substanzen in vivo geschlossen werden, so dass zur genaueren Einschätzung der Auswirkungen einer Einnahme anthocyanreicher Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel in vivo eine retrospektive Studienanalyse durchgeführt wurde.

## **4.2 Bioverfügbarkeit von Anthocyanen**

Eine ausreichende Bioverfügbarkeit der Anthocyane ist die Grundlage für relevante Effekte in vivo.

In zahlreichen Studien wurde der Metabolitnachweis anthocyanhaltiger Substanzen unternommen. Die dafür verwendeten Testsubstanzen waren unter anderem Cranberrysaft oder -kapseln (Duthie et al. 2005), Blutorangensaft (Vitaglione et al. 2007), Granatapfelsaft oder -kapseln (Cerdá et al. 2004, Mertens-Talcott et al. 2006) Rotwein in handelsüblicher und entalkoholisierter Form (Bub et al. 2001, Caccetta et al. 2000) und Traubensaft (Bub et al. 2001).

Duthie et al. 2005 wiesen nach vierzehntägiger, täglicher Aufnahme von 750 ml Cranberrysaft signifikante Konzentrationen der Phenolsäure Salizylsäure (2-Hydroxybenzoesäure) nach. Nach einer Woche zeigte sich ein messbarer, nach der zweiten Woche ein signifikanter Anstieg des Metaboliten in Plasma und Urin. Dies spricht für eine gute Bioverfügbarkeit der in Cranberrysaft enthaltenen Anthocyane.

Bei Vitaglione et al. 2007 zeigte sich nach Einnahme von Blutorangensaft ein signifikanter Anstieg für Protocatechusäure, den Metaboliten des Anthocyan Kuromanin. Zudem wird angenommen, dass Protocatechusäure zusätzlich von der

intestinalen Mikroflora gebildet wird. Insgesamt konnte der Abbau von 74 Prozent der aufgenommenen Cyanidinglycoside nachvollzogen werden. Fast drei Viertel der aufgenommenen Cyanidinglycoside wurde in Form von Protocatechusäure vorgefunden.

Nach fünftägiger Einnahme jeweils eines Liters Granatapfelsafts, der unter größtenteils das Ellagitanin Punicalagin sowie die Anthocyane Delphinidin, Cyanin und Pelargonidin-3-glucosid enthielt, konnten Cerdá et al. 2004 weder Punicalagin noch die im Saft enthaltenen Anthocyane nachweisen.

Nach einer Einzeldosis Granatapfelsaft, die unter anderem Punicalagin und Ellagsäure beinhaltete, gelang bei Mertens-Talcott et al. 2006 der Nachweis verschiedener Metabolite der Ellagsäure in Plasma und Urin. Punicalagin wurde, wie auch bei Cerdá et al. 2004, nicht nachgewiesen. 30 Minuten nach Einnahme der Testsubstanz wurde ein signifikanter Anstieg der antioxidativen Kapazität im Plasma gemessen. Nachdem die Spitzenkonzentrationswerte der Ellagsäure jedoch erst nach 60 Minuten erreicht wurden, sind die antioxidativen Fähigkeiten nach Ansicht der Autoren möglicherweise auf andere Flavonoide, deren Metabolite oder auf deren Kombination mit Ellagsäure zurückzuführen.

Um die Bioverfügbarkeit zu quantifizieren, wird als Testsubstanz häufig Rotwein verwendet. Dieser enthält eine Vielzahl von Anthocyanen, wie Cyanidin, Peonidin, Pelargonidin, Delphinidin, Petunidin und Malvidin sowie Tannine, wie Ellag- und Gallussäuren. Die im Rotwein enthaltenen Anthocyane können mit Säuren verestert sein, z.B. mit Kaffeesäure (Eccli & Pedri 2007).

Nach einmaliger Einnahme von jeweils Traubensaft, normalem und entalkoholisiertem Rotwein gelang Bub et al. 2001 bei allen Testsubstanzen der Nachweis des Anthocyans Malvidin-3-glucosid in Plasma und Urin. Es zeigte sich ein linearer, nicht signifikanter Zusammenhang zwischen aufgenommener und gemessener Konzentration. Die Autoren vermuten aufgrund der geringen nachweisbaren Konzentration einen unbekannten Abbauweg von Malvidin-3-glucosid und gehen von bislang nicht bekannten Metaboliten aus.

Bei Caccetta 2000 zeigte sich vier Stunden nach der Aufnahme von Rotwein und dealkoholisiertem Rotwein in einer ein signifikanter Anstieg von Kaffeesäure und 4-O-

Methylgallussäure. Für Protocatechusäure wurde kein signifikanter Konzentrationsanstieg im Serum verzeichnet.

Caccetta et al. 2001 maßen sowohl nach Aufnahme von Rotwein als auch von entalkoholisiertem Rotwein eine Konzentrationserhöhung der 4-O- Methylgallussäure. Der Alkoholgehalt scheint nicht ausschlaggebend für die Resorption der Flavonoide zu sein.

Nigdikar et al. 1998 verzeichneten erhöhte Polyphenolplasmaspiegel vor allem nach der Aufnahme von Rotwein, aber auch nach Einnahme von Rotweinpolyphenolkapseln ohne Alkohol.

In der Mehrzahl der Studien, in denen Anthocyane hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit untersucht wurden, wurde eine Einzeldosis einer Testsubstanz eingenommen (Bub et al. 2001, Caccetta et al. 2000, Mertens-Talcott et al. 2006, Vitaglione et al. 2007). In einigen Studien konnten signifikante Konzentrationen von Phenolsäuren (Duthie et al. 2005, Caccetta et al. 2000), Flavonoiden (Caccetta et al. 2000) und Anthocyanen (Vitaglione et al. 2007) gemessen werden, wohingegen in anderen Studien kein Nachweis signifikanter Konzentrationen für Flavonoide (Cerdá et al. 2004) und Anthocyane (Bub et al. 2001, Caccetta et al. 2000, Cerdá et al. 2004) gelang. Manche Studie erfassten sowohl signifikante als auch nicht signifikante Anthocyan- und Tanninkonzentrationen (Cerdá et al. 2004, Mertens-Talcott et al. 2006). Damit ist die Studienlage unklar und die Bioverfügbarkeit scheint stark abhängig von den betrachteten Substanzen zu sein.

Auch andere Studien bestätigen, dass die Bioverfügbarkeit von Polyphenolen großen Schwankungen unterliegt: Biesalski und Grimm 2015 fanden beispielsweise eine niedrige Bioverfügbarkeit für bestimmte Anthocyane, Lignane, Phytosterine, Saponine und Phenolsäureester, während für Terpene, Sulfide, Glucosinolate und Carotinoide eine hohe Bioverfügbarkeit postuliert wurde.

#### **4.3 Positive Eigenschaften von Flavonoiden in vivo**

Der positive Nutzen anthocyanhaltiger Pflanzeninhaltsstoffe wurde vielfach diskutiert und sowohl mittels Studien in vitro als auch in vivo untersucht. Im Folgenden werden die Ergebnisse von fünfzig klinischen Studien hinsichtlich Wirkung und Effektivität sowie die Ergebnisse hinsichtlich Verträglichkeit und unerwünschter Nebenwirkungen



von polyphenol- und insbesondere anthocyanhaltigen Substanzen vorgestellt. Im Rahmen dieser Studien erhielten gesunde oder vorerkrankte Probanden entsprechende Präparate in unterschiedlicher Form. In 42 der 50 Studien wurden flavonoidhaltige Getränke verabreicht, wie Rotwein in handelsüblicher oder entalkoholisierter Form sowie unterschiedliche Säfte (Cranberrysaft in zehn Studien, Traubensaft und Granatapfelsaft in jeweils fünf Studien, Johannisbeersaft in drei Studien, Grapefruitsaft in zwei Studien sowie Blutorangensaft und Holunderbeersaft in jeweils einer Studie). Rotwein wurde in zwölf Studien mit entalkoholisiertem Rotwein und in drei Studien mit Weißwein verglichen. In sieben Studien wurden sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe in Kapselform aufgenommen. Anthocyanhaltige Nahrungsergänzungsmittel kamen in vier Studien zum Einsatz sowie in einer retrospektiven Befragung. In einer Studie wurde den Probanden Lebensmittel (Rosinen, Cranberries) verabreicht.

Als Kontrollsubstanzen zu Säften oder Weinen wurden Placebogetränke wie polyphenolfreie Rotweine, Weißweine, Bier, Ethanol oder Wasser bzw. Placebokapseln verwendet.

In 35 Studien wurde mit Probanden ohne bekannte Vorerkrankungen gearbeitet. Drei Studien untersuchten Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung. Für zwei Studien wurden Probanden mit einem diagnostizierten Harnwegsinfekt ausgewählt. Jeweils zwei Studien befassten sich mit übergewichtigen Probanden und Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2. Jeweils eine Studie untersuchte Patienten mit arterieller Hypertonie, einer Fettstoffwechselstörung, einer neurogenen Blasenentleerungsstörung, einer *Helicobacter-pylori*-Besiedlung oder einem Rezidiv eines Prostatakarzinoms. In zwei Studien waren die Probanden minderjährig.

Diese und weitere Informationen für jede der untersuchten Studien finden sich nach Erstautor alphabetisch geordnet zusätzlich als tabellarischer Überblick in Anhang 1.

### **4.3.1 Kardioprotektive Eigenschaften von Flavonoiden**

Um den Einfluss von in alkoholfreiem Rotwein enthaltenen Flavonoiden auf die koronare Mikrozirkulation zu untersuchen, wurde die koronare Flussreserve (CFR) des Ramus interventricularis anterior (RIVA) echokardiographisch vor und nach vierzehntägiger Einnahme eines flavonoidhaltigen, löslichen Pulvers bestimmt

(Hozumi et al. 2006). Es zeigte sich bei Maximalfluss ein Adenosin-vermittelter Anstieg der koronaren Flussreserve bei gesunden Probanden (Anstieg um 12 Prozent) und insbesondere auch bei Probanden mit koronarer Herzerkrankung (Anstieg um 22 Prozent). Die Studiengruppe sieht dadurch die Hypothese kardioprotektiver Eigenschaften von Flavonoiden bestätigt. Einschränkend muss jedoch bemerkt werden, dass die Studie ohne Kontrollgruppe durchgeführt wurde.

Kiviniemi et al. 2007 zeigten eine Erhöhung der koronaren Flussreserve des RIVA durch die Aufnahme von Rotwein durch gesunde Probanden, während die Aufnahme entalkoholisierten Rotweins keine signifikante Verbesserung bewirkte. Auch ein höherer Polyphenolgehalt im Wein (1 g/kg Körpergewicht) erbrachte keine weitere Verbesserung der koronaren Flussreserve. Die Autoren der Studie sehen somit den Alkoholanteil der Testsubstanz als wesentlichen Faktor hinsichtlich der Beeinflussung der koronaren Flussreserve.

Die flussvermittelte Vasodilatation („flow mediated dilation“ FMD) bezeichnet eine weitere echokardiographische Methode zur Beurteilung der peripheren Endothelfunktion, die typischerweise an der Arteria brachialis, Arteria femoralis oder seltener an der Arteria radialis gemessen wird (Celermajer et al. 1992). Durch die Steigerung des Blutflusses und der damit einhergehenden Erhöhung der auf das Gefäßendothel einwirkenden Scherkräfte wird eine Stickstoffmonoxidfreisetzung (NO-Freisetzung) erzielt (Joannides et al. 1995). Somit ist die Stickstoffmonoxidkonzentration im Blut ein direkter Biomarker für die flussvermittelte Vasodilatation und kann zur Prognose einer chronischen Herzinsuffizienz oder zur Risikostratifizierung bei Verdacht auf eine koronare Herzerkrankung bei entsprechend symptomatischen Patienten herangezogen werden (Moens et al 2005).

Mittels dieser Methode wurde bei Chou et al. 2001 die Endothelfunktion von 22 Probanden mit koronarer Herzerkrankung nach Einnahme von Traubensaft zusammen mit Vitamin E und von purem Traubensaft untersucht. Es zeigte sich durch Messung an der Arteria brachialis eine dosisunabhängige verbesserte Vasodilatation nach vierwöchiger, täglicher Einnahme von Traubensaft in unterschiedlich hohen Dosierungen von 4 bzw. 8 ml/kg Körpergewicht. Die zusätzliche Einnahme von Vitamin E trug nicht zur Änderung der Vasodilatation bei.

Boban et al. 2006 untersuchten mit der gleichen Methode bei gesunden Probanden die Auswirkungen von Rotwein, entalkoholisiertem Rotwein und eines polyphenolfreien, alkoholischen Getränks. Rotwein bewirkte eine signifikante flussvermittelte Vasodilatation der Arteria brachialis, während dies weder bei reinem Alkohol noch bei polyphenolfreiem Rotwein nachzuweisen war. Setzte man dem entalkoholisierten Rotwein geringe Mengen Alkohol zu, zeigte sich allerdings zusätzlich ein positiver Effekt auf die Vasodilatation. Keine der Testsubstanzen beeinflusste die Parameter Herzfrequenz und Blutdruck. Die Auswirkungen der Testsubstanzen wurden des Weiteren ex vivo am Aortenendothel von Ratten untersucht. Eine Vasodilatation ließ sich nur durch die polyphenolhaltigen Testsubstanzen (Rotwein, entalkoholisierter Rotwein) nachweisen. Im Rotwein enthaltene Polyphenole, und darunter vor allem Anthocyane, bewirken sowohl an isolierten Gefäßen ex vivo als auch am Gefäßendothel in vivo akute Gefäßveränderungen, allerdings scheint eine Aufnahme eventuell nur mit Alkohol möglich.

Papamichael et al. 2004 kombinierten Rotwein mit Zigarettenkonsum unter der Hypothese, dass sich eine rotwein-vermittelte Vasodilatation und eine nikotin-vermittelte Vasokonstriktion bei gesunden Probanden nivellieren. Dies konnte sowohl für entalkoholisierten als auch für alkoholhaltigen Rotwein bestätigt werden. In einer Studie derselben Autoren mit gleichem Studiendesign (doppelblinde Crossover-Studie über 3 Tage mit gesunden Probanden) wurde die Hypothese anhand einer nichtinvasiven Messung der Arteria radialis, der Herzfrequenz und des Blutdrucks gesunder Probanden erneut untersucht. 30 Minuten nach Konsum einer Zigarette konnte ein signifikanter Anstieg des Blutdrucks bestätigt werden; dieser blieb bei gleichzeitigem Konsum von herkömmlichen Rotwein als auch von entalkoholisiertem Rotwein aus (Papamichael et al. 2006). Die Autoren folgern daraus, dass die in beiden Testgetränken enthaltenen Flavonoide zu einer Dilatation des Gefäßendothels beitragen.

Einige Studien bestimmten den Stickstoffmonoxidgehalt im Blut und schlossen daraus auf die arterielle flussvermittelte Vasodilatation und auf günstige Auswirkungen hinsichtlich Herz-Kreislauf-erkrankungen. Stickstoffmonoxid wird unter anderem aus nitrinergen Neuronen und Endothelzellen freigesetzt. Die intrazellulären

Mechanismen, durch die Stickstoffmonoxid die Vasodilatation in glatten Gefäßmuskelzellen verursacht, bedingen die Bildung von zyklischem 3-5-Guanosinmonophosphat (cGMP) durch Katalyse der sogenannten löslichen Guanylcyclase. In Thrombozyten führt die Zunahme von intrazellulärem cGMP zu einer Abnahme der Adhäsion und Aggregation, zum anderen besitzen Thrombozyten selbst einen L-Arginin-NO-Stoffwechsel, der ihre Aggregationseigenschaften reguliert. Die Freisetzung von Stickstoffmonoxid wird durch die Bindung von ADP, ATP und Serotonin an Endothelrezeptoren ausgelöst, die wiederum aus Thrombozyten freigesetzt werden. Stickstoffmonoxid zeichnet sich durch eine sehr kurze Halbwertszeit im Bereich von Sekunden aus und erreicht den Wirkungsort durch Diffusion (Unger 1998). In einigen Studien wurde eine Vasodilatation nach Konsum flavonoidhaltiger Getränke festgestellt. Es ist fraglich, ob dies auf eine dadurch gesteigerte Stickstoffmonoxidproduktion zurückzuführen ist und ob dafür der Alkohol- oder der Polyphenolgehalt des Rotweins ursächlich ist.

Matsuo et al. 2001 konnten anhand sechs gesunder Probanden nach einer Einzeldosis Rotwein bzw. Ethanol einen jeweils signifikanten Anstieg von Stickstoffmonoxid im venösen Blut in vivo verzeichnen, was sich klinisch durch einen Abfall des arteriellen Blutdrucks auswirkte. Nach Einnahme eines alkoholfreien, flavonoidhaltigen Getränks zeigte sich lediglich ein nicht signifikanter Stickstoffmonoxidanstieg, die Herzfrequenz und der Blutdruck der Probanden blieben dadurch erwartungsgemäß unverändert. In dieser Studie wird vom Alkoholgehalt als Ursache einer NO-vermittelten Vasodilatation ausgegangen. Einschränkend sei bemerkt, dass das Verhalten von Stickstoffmonoxid, das venös gemessen wurde, möglicherweise nicht auf das Verhalten von Koronararterien übertragbar ist. Des Weiteren handelte es sich um ein kleines Probandenkollektiv.

Während einer zweiwöchigen täglichen Einnahme von Grapefruitsaft in einer Dosierung von 7 ml/kg Körpergewicht wurde bei Freedman et al. 2001 durch eine Messung mit einer NO-selektiven Mikroelektrode ein Thrombozyten-vermittelter Anstieg der Stickstoffmonoxid-Ausschüttung verzeichnet. Darüber hinaus zeigte sich eine Hemmung der Thrombozytenaggregation und eine verringerte Produktion von Superoxiden. Die Autoren postulieren daher einen antioxidativen Effekt von Grapefruitsaft.

Chou et al. 2001, Freedman et al. 2001 und Hozumi et al. 2006 gehen insgesamt davon aus, dass am ehesten die Stoffgruppe der Flavonoide für die positiven Effekte auf die koronare Mikrozirkulation verantwortlich ist. Papamichael et al. 2004 und Papamichael et al. 2006 führen die Vasodilatation der Arteria radialis nach Einnahme von alkoholfreiem und alkoholhaltigem Rotwein ebenfalls auf den Flavonoidgehalt der Testgetränke zurück. Matsuo et al. 2001 gehen hingegen davon aus, dass der Alkohol im Rotweins für kardioprotektive Effekte verantwortlich ist. Boban et al. 2006 und Kiviniemi et al. 2007 schließlich vermuten günstige Effekte durch eine Kombination aus Alkohol und Polyphenolen, da sich weder durch die Aufnahme der alkoholfreien Testsubstanz noch durch die der Polyphenole alleine eine Vasodilatation der Arteria brachialis bzw. der Koronararterien auslösen ließ, während dies nach Aufnahme von Rotwein möglich war. Insgesamt gehen fünf der acht Studien von günstigen Effekten auf die Vasodilatation in großen Gefäßen und auf eine verbesserte Mikrozirkulation in den Koronararterien durch Flavonoide aus, wobei drei Studien nur alkoholfreie Substanzen (Chou et al. 2000, Freedman et al. 2001, Hozumi et al. 2006) und zwei Studien sowohl alkoholische als auch alkoholfreie Substanzen untersuchten (Papamichael et al. 2004, Papamichael et al. 2006). In nur einer Studie wurde die Ursache der Vasodilatation alleine dem Alkoholgehalt zugeschrieben (Matsuo et al. 2001).

Der kardioprotektive Effekt des Rotweins könnte auch durch eine verringerte Monozytenmigration in das Gefäßendothel bedingt sein (Zern & Fernandez et al. 2005). Bei der Entstehung der Arteriosklerose bewirkt eine Fehlfunktion des Endothels eine Vasokonstriktion und eine Aktivierung der Endothelzellen, die dadurch Adhäsionsmoleküle ausschütten. Monozyten wandern aus dem Blut in die Gefäßwände und wandeln sich zu Makrophagen. Diese schütten Zytokine aus und leiten gemeinsam mit Lymphozyten den Entzündungsprozess des Endothels ein. Es kommt zu einer endotheliale Dysfunktion mit Kollagenabbau und zur Entstehung arteriosklerotischer Plaques (Hansson 2005, Linton & Fazio 2003).

Imhof et al. 2008 bestimmten ex vivo die Monozytenmigration nach dreiwöchiger Einnahme von Rotwein, entalkoholisiertem Rotwein, alkoholhaltigem und alkoholfreiem Bier, Ethanol und Wasser durch 49 gesunde Probanden. Die Messung mittels einer modifizierten Boyden-Kammer ergab eine Reduktion der Protein-1-

induzierten Monozytenmigration um 58 Prozent nach Ingestion von Ethanol und um 36 Prozent nach Ingestion von entalkoholisiertem Rotwein, während die Einnahme von Rotwein, Bier, alkoholfreiem Bier und Wasser keine signifikante Reduktion der Monozytenmigration bewirkte. Nach Imhof et al. 2008 ist weder der Flavonoid- noch der Alkoholgehalt für eine verminderte Monozytenmigration ins Endothel ausschlaggebend.

Ellinger et al. 2008 untersuchten die T-Zell-Apoptose, die Phagozytose sowie die Neutrophilen- und Monozytenzahl sowohl nach einmaliger als auch nach täglicher Aufnahme von alkoholhaltigem bzw. entalkoholisiertem Rotwein. Nach sechswöchiger Einnahme zeigten sich keine signifikanten immunologischen Veränderungen. Die Hypothese einer verringerten Monozytenmigration durch Rotweinkonsum konnte somit in keiner der untersuchten Studien bestätigt werden.

#### **4.3.2 Flavonoide und das französische Paradoxon**

Die kardiovaskuläre Mortalität ist in Frankreich trotz einer hohen Aufnahme gesättigter Fettsäuren im Rahmen der vergleichsweise fetthaltigen Ernährung niedriger als in den Nachbarländern. Dieses als „französisches Paradoxon“ bekannte Phänomen erklären Renaud & de Lorgeril 1992 durch einen maßvollen Konsum proanthocyanhaltigen Rotweins.

Neben Alkohol enthält Rotwein eine Vielzahl an Antioxidantien wie Flavonole, Flavanole, Proanthocyanidine und Anthocyane (vgl. auch Kapitel 4.3.1). Es wird vermutet, dass diese Substanzen die Lipidperoxidation, die einen unabhängigen Risikofaktor in der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen darstellt, verhindern können (Aviram & Fuhrman 2002).

Physiologisch stehen oxidative und reduktive Prozesse miteinander im Gleichgewicht. Reaktive Sauerstoffspezies werden von antioxidativen Schutzmechanismen eliminiert. Durch einen Mangel an Antioxidantien kann es zu einer Reaktion von freien Radikalen mit Zellstrukturen kommen, die eine Zellschädigung nach sich zieht. Bei einem Angriff freier Radikale auf ungesättigte Fettsäuren werden Lipidperoxidationsprodukte (TBARS= thiobarbituric acid reactive substances) gebildet. Lipidperoxidationsprodukte wie Malondialdehyd (MDA), und Antioxidantien, z.B. Vitamin E sind als Biomarker für oxidativen Stress etabliert (Kurutas et al. 2015, Nielsen et al. 1997, Olinski et al. 2002).

Es werden im Folgenden klinische Studien vorgestellt und diskutiert, die günstigen Effekte des Rotweins im Hinblick auf Prävention und Modulation kardiovaskulärer Erkrankungen untersuchten und hierfür die gesamte antioxidative Plasmakapazität bestimmten.

Banini et al. 2006 untersuchten die Einnahme von Muskattraubensaft, normalem und entalkoholisiertem Muskattraubenwein bei gesunden Probanden und bei Typ 2 Diabetikern hinsichtlich der Insulin- und Blutzuckerspiegel, der Plasmalipide sowie der Vitamin C- und E-Plasmakonzentrationen. Bei Diabetikern fanden sich nach Konsum von Muskattraubenwein in den Hämoglobin-Zellmembranen mehr ungesättigte Fettsäuren und weniger gesättigte Fettsäuren. Nach Einnahme von dealkoholisiertem Wein wurden bei den Probanden dieser Subgruppe zudem erhöhte Vitamin C- und E-Spiegel gemessen. Diese Ergebnisse weisen auf eine verminderte Lipidperoxidation und somit auf eine erhöhte antioxidative Plasmakapazität hin. Lediglich bei den Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2, die Muskattraubensaft erhielten, zeigte sich eine geringere Vitamin-E-Aufnahme. In allen anderen Subgruppen verlief die Vitamin-E-Resorption unbeeinträchtigt. Nach Einnahme von normalem und entalkoholisiertem Muskattraubenwein wurden bei den Probanden mit Diabetes mellitus niedrigere Blutzucker-, Insulin- und Langzeitblutzuckerspiegel gemessen. Nach Ansicht der Autoren verbessert die Einnahme von normalem und entalkoholisiertem Muskattraubenwein das antioxidative Potential bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Für Muskattraubensaft konnte dies nicht bestätigt werden. In früheren Arbeiten war gezeigt worden, dass Vitamin E die Insulinresistenz zumindest vorübergehend herabsetzt (Manning et al. 2004, Paolisso et al. 1994).

Nach Einnahme alkoholfreier Rotweinpolyphenole über zwei Wochen wurde bei Carbonneau et al. 1997 ein signifikanter Anstieg der totalen antioxidativen Plasmakapazität gemessen, weshalb die Autoren der Studie von antiatherogenen Effekten durch die im Rotwein enthaltenen Polyphenole ausgehen. Zudem zeigte sich ein erhöhter Vitamin E-Gehalt in LDL-Cholesterin, der jedoch nicht zu einer erhöhten antioxidativen Kapazität des Low-Density-Lipoproteins beitrug. Die antioxidative Kapazität des High-Density-Lipoproteins blieb ebenfalls unverändert.

Chopra et al. 2000 befassten sich mit der Frage, ob die tägliche Einnahme von Quercetin- oder Rotweinextrakt in Kapselform im Vergleich zu einer Placebo-Substanz

die Lipidperoxidation hemmen kann. Hierfür erhielten 21 Probanden über zwei Wochen täglich ein Placebogetränk, anschließend zusätzlich entweder Quercetin- oder Rotweineextrakt für weitere zwei Wochen. Die Lipidperoxidation konnte durch beide Substanzen sowohl für die Dauer des Versuchs als auch für weitere fünf Wochen reduziert werden, so dass die Autoren von einer erhöhten antioxidativen Kapazität durch die Einnahme von Quercetin- und Rotweineextrakt ausgehen. Die Carotinoid-, Retinol-, sowie die Vitamin C und E-Plasmakonzentrationen blieben unverändert.

Nach sechswöchiger täglicher Einnahme ließen sich nur bei Arendt et al. 2005 nach Aufnahme von Rotwein, jedoch nicht nach Aufnahme von entalkoholisiertem Rotwein, dauerhaft erhöhte Polyphenolkonzentrationen im Serum der 76 Probanden nachweisen, so dass Alkohol als notwendig für die Absorption vasoaktiver Polyphenole erachtet wird. Eine erhöhte antioxidative Kapazität im Plasma, die ex vivo mittels Detektion von DNA-Strangbrüchen in peripheren Leukozyten bestimmt wurde, konnte allerdings weder durch die Einnahme von normalem noch durch die Einnahme von entalkoholisiertem Rotwein bestätigt werden. Somit konnte kein antiatherogener Effekt durch Rotwein festgestellt werden.

Bei Caccetta et al. 2000 wurden nach Konsum von Rotwein und entalkoholisiertem Rotwein signifikant angestiegene Plasmakonzentrationen der Metabolite Kaffeesäure (3,4-Dihydroxyzimtsäure) und 4-O-Methylgallussäure (3,5-Dihydroxy-4-methoxybenzoesäure) nachgewiesen. Für den Anthocyan-Metaboliten Protocatechusäure (3,4-Dihydroxybenzoesäure) wurde kein signifikanter Anstieg im Plasma verzeichnet. Ein unmittelbarer, günstiger Effekt auf die Lipidperoxidation ex vivo war jedoch nach einmaliger Aufnahme von Rotwein, entalkoholisiertem Rotwein oder polyphenolfreiem Rotwein nicht feststellbar.

Caccetta et al. 2001 untersuchten ebenfalls antioxidative Eigenschaften in vivo nach vierzehntägiger Einnahme von Rotwein, Weißwein oder entalkoholisiertem Rotwein durch 18 gesunde Probanden. Wie bei Caccetta et al. 2000 wurde als Marker für die Flavonidaufnahme 4-O-Methylgallussäure im Serum bestimmt, welche sich nach zweiwöchigem Konsum von normalem und entalkoholisiertem Rotwein nachweisen ließ und erwartungsgemäß nach Weißweinkonsum nicht detektierbar war. Als Marker für die Alkoholaufnahme wurde die Konzentration der Gammaglutamyltranspeptidase gemessen, die entsprechend anstieg. F2-Isoprostano dient als Marker für oxidativen



Stress und wurde mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie in Serum und Urin gemessen. Für entalkoholisierten Wein wurde ein Abfall der F2-Isoprostankonzentration nachgewiesen, nicht jedoch für Rotwein und Weißwein. Dies spricht für antioxidative Eigenschaften von flavonoidreichem, alkoholfreiem Rotwein. Gemäß den Ergebnissen von Caccetta et al. 2001 kann kein antioxidativer Effekt für handelsüblichen Rotwein und Weißwein nachgewiesen werden.

Greenrod et al. 2005 erzeugten mit Hilfe von Gammastrahlen ex vivo einen Genomschaden im Serum gesunder Probanden, um zu eruieren, ob die alkoholischen oder die nichtalkoholischen Bestandteile des Rotweins vor oxidativem Stress schützen. Durch Zugabe von entalkoholisiertem Rotwein konnte der Genomschaden um 20 Prozent und damit am effektivsten reduziert werden. Auch alkoholhaltiger Rotwein schützte im Vergleich zu Ethanol vor strahleninduziertem DNA-Schaden. Somit sehen die Autoren der Studie die antioxidativen Eigenschaften des Rotweins eher im Flavonidgehalt als im Alkoholgehalt begründet. Die Plasmacatechinkonzentration korrelierte allerdings nur schwach negativ mit dem strahlenbedingten Chromosomenschaden, so dass die antioxidativen Eigenschaften von Rotwein und entalkoholisiertem Rotwein möglicherweise auch auf andere Komponenten wie beispielsweise Kaffeesäure oder Resveratrol zurückzuführen sind. Gorelik et al. 2008 untersuchten das Phänomen des „französischen Paradoxons“ durch die Bestimmung der postprandialen Lipidperoxidation nach der Einnahme einer fetthaltigen Mahlzeit (Truthahnfleisch) in Kombination mit Wasser und erhitzter Rotweinsoße bzw. unerhitzter Rotweinsoße. Hierfür wurde das Lipidperoxidationsprodukt Malondialdehyd im Serum gemessen. Die höchste Malondialdehydkonzentration und damit die geringste antioxidative Plasmakapazität zeigte sich nach Einnahme von Truthahnfleisch mit Wasser (Ausgangswert 50 nM Malondialdehyd, Anstieg auf 160 nM). Eine bessere antioxidative Fähigkeit wurde nach Konsum der gleichen Mahlzeit mit erhitzter Rotweinsoße gemessen (Anstieg auf 90 nM). Nach Aufnahme der Mahlzeit mit unerhitzter Rotweinsoße blieb die Lipidperoxidation aus. Somit führt die Aufnahme von Rotwein in vivo zu einer solch relevanten Erhöhung der antioxidativen Kapazität, dass nach Aufnahme einer fettreichen Mahlzeit keine signifikante Lipidperoxidation stattfindet. Anhand dieser

Studienergebnisse sehen die Autoren das „französische Paradoxon“ bestätigt. Dabei scheint der Alkohol im Rotwein die Flavonoidresorption zu fördern.

Auch Goldberg et al. 1996 untersuchten mittels vierwöchiger Einnahme von Rotwein, Weißwein und Traubensäften unterschiedlichen Flavonidgehalts, ob antioxidative Fähigkeiten auf den Flavonoid- oder den Alkoholgehalt der Getränke zurückzuführen sind. Die Autoren der Studie konnten nach der Aufnahme von Rotwein und Weißwein günstige Veränderungen des Fettstoffwechsels messen und führten dies auf den Alkoholkonsum zurück. Nach Einnahme von Traubensaft wurden keine Änderungen der Lipidparameter verzeichnet. Nach Ansicht der Autoren sind Flavonoide ohne die zusätzliche Aufnahme von Alkohol somit nicht in der Lage, die Lipidperoxidation zu verringern.

Modun et al. 2008 führten eine Studie im Crossover-Design mit neun Probanden und einer ähnlichen Fragestellung durch. Hier wurde die Plasmaoxidableitungsfähigkeit von Catechin und Harnsäure nach einer Einzeldosis von jeweils alkoholhaltigem, alkoholfreiem und flavonoidfreiem Rotwein sowie Ethanol und Wasser durch die Messung der Eisenreduktion bestimmt. Nach Einnahme alkoholhaltigem Rotweins wurde ein höherer Anstieg der Plasmaoxidableitungsfähigkeit gemessen als nach Einnahme entalkoholisierten Rotweins und flavonoidfreien Rotweins, was die Ergebnisse von Goldberg et al. 1996 bestätigt.

Nigdikar et al. 1998 untersuchten, ob sich aus Rotweinkonsum, verglichen mit dem Konsum anderer Getränke, ein kardioprotektiver Effekt ableiten lässt. Dafür wurden Rotwein, Weißwein und ein anderes alkoholisches Getränk sowie Rotweinpolyphenolpulver, das in Weißwein oder Wasser gelöst wurde, für zwei Wochen täglich verabreicht. Es wurden nach Aufnahme aller polyphenolhaltiger Getränke eine entsprechende Erhöhung der Serumpolyphenolspiegel nachgewiesen. Nach Aufnahme von Rotwein wurden die höchsten Polyphenolkonzentrationen gemessen, gefolgt von Weißwein in Wasser gelöstem Polyphenolpulver. Je höher die Serumspiegel der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe waren, desto geringer fiel die LDL-Lipidperoxidation aus. Nach der Aufnahme von Rotwein zeigte sich eine Reduktion der Lipidperoxidation um 31 Prozent, nach Aufnahme von Weißwein mit Polyphenolpulver eine Reduktion um 29 Prozent, nach Wasser mit Polyphenolpulver um 28 Prozent und nach Weißwein 23 Prozent. Die Autoren sehen ihre Hypothese bestätigt, dass

insbesondere Rotwein aufgrund seines hohen Polyphenolgehaltes durch antioxidative Mechanismen einen Beitrag zur Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen leisten kann. Dies kann in etwas geringerem Ausmaß auch durch Einnahme von Polyphenolen ohne Alkoholgehalt erreicht werden, jedoch nicht durch Weißwein.

Zusammenfassend wurden in den meisten Studien, in denen Rotwein untersucht wurde, dessen antioxidative Fähigkeiten bestätigt (Banini et al. 2006, Carbonneau et al. 1997, Caccetta et al. 2001, Chopra et al. 2000, Goldberg et al. 1996, Gorelik et al. 2008, Greenrod et al. 2005, Modun et al. 2008, Nigdikar et al. 1998). Es wird dabei entweder von Polyphenolen und insbesondere von der Untergruppe der Flavonoide als Ursache für eine erhöhte antioxidative Fähigkeit ausgegangen (Banini et al. 2006, Carbonneau et al. 1997, Caccetta et al. 2001, Chopra et al. 2000, Greenrod et al. 2005) oder von Alkohol (Goldberg et al. 1996), bzw. von einer Kombination aus Polyphenol- und Alkoholgehalt (Gorelik et al. 2008, Modun et al. 2008, Nigdikar et al. 1998). Nur zwei Studien fanden keine Hinweise auf eine erhöhte antioxidative Plasmakapazität, weder nach sechswöchiger noch nach einmaliger Einnahme von normalem oder entalkoholisiertem Rotwein (Arendt et al. 2005, Caccetta et al. 2000).

### **4.3.3 Antioxidative Eigenschaften von Flavonoiden**

Antioxidative Fähigkeiten werden nicht nur dem Rotwein, sondern auch anderen polyphenolhaltigen und besonders anthocyanhaltigen Lebensmitteln nachgesagt. Im Folgenden werden Studien vorgestellt, welche die Auswirkungen polyphenolreicher Lebensmittel hinsichtlich ihrer antioxidativen Fähigkeiten sowie hinsichtlich günstiger Auswirkungen auf den Fettstoffwechsel und die Thrombozytenaggregation untersuchten.

Aviram et al. 2000 bestimmten bei 13 gesunden Probanden sowie bei Apolipoprotein E-depletierten Mäusen die Lipidperoxidationsprodukte im Plasma nach jeweils zweiwöchiger Aufnahme von Granatapfelsaft. Im Tierversuch wurden nach zwei Wochen keine Konzentrationsänderungen festgestellt. Beim Menschen zeigte sich jedoch verglichen mit den Anfangskonzentrationen eine um sechs Prozent signifikant verringerte Lipidperoxidation und eine Erhöhung des gesamten antioxidativen Potenzials im Plasma um neun Prozent. Für drei der 13 Probanden wurde die tägliche Aufnahme von Granatapfelsaft auf weitere zwei Wochen ausgeweitet. Es konnte auch

in der dritten und vierten Woche ein dosisabhängiger Abfall des Plasmalipidperoxidgehalts beobachtet werden (11 Prozent nach 20 ml Granatapfelsaft täglich in der dritten Woche und 21 Prozent nach 50 ml Granatapfelsaft täglich in der vierten Woche, jeweils verglichen mit den Ausgangswerten). Durch eine Einnahme von 80 ml Granatapfelsaft täglich ließ sich keine weitere Verbesserung des antioxidativen Potentials erzielen. Der hemmende Effekt von Granatapfelsaft auf die Lipidperoxidation hielt noch bis zu zwei Wochen nach Beendigung der regelmäßigen Granatapfelsafteinnahme an. Zudem zeigt die ex vivo Inkubation von Plasma mit Granatapfelsaft eine dosisabhängige Hemmung der Thrombozytenaggregation um bis zu 90 Prozent. Die Autoren sahen somit die Hypothese der antioxidativen und antithrombotischen Eigenschaften von Granatapfelsaft bestätigt.

Um zu zeigen, dass Flavonoide zu einer verminderten Thrombozyten-vermittelten Ausschüttung von Entzündungsmarkern beitragen, wurden in der Crossover-Studie von Albers et al. 2004 die antithrombotischen und antioxidativen Effekte von Traubensaft bei gleichzeitiger, täglicher Einnahme von Aspirin bei zwanzig Probanden mit koronarer Herzerkrankung untersucht. Es zeigte sich in der Tat eine signifikante Verminderung der Superoxide im Plasma und damit eine erhöhte antioxidative Aktivität. Die Thromboxan-, B2-, P-Selectin- und Stickstoffmonoxid-Spiegel sowie die Thrombozytenadhäsion und -aggregation blieben jedoch unverändert. Ein zusätzlicher antithrombotischer Effekt durch die im Traubensaft enthaltenen Flavonoide war somit nicht nachweisbar.

Nidgikar et al. 1998 bestätigten antioxidative Eigenschaften von Rotwein und führten sie auf die enthaltenen Anthocyane und Tannine zurück (siehe Kapitel 4.2). Im zweiten Teil der Studie wurden Johannisbeersaft, Rotweinpolyphenolkapseln und Vitamin E über zwei Wochen verabreicht. Es zeigte sich bei allen Testgetränken und -kapseln ein Anstieg der gesamt-antioxidativen Kapazität (nach Einnahme von Johannisbeersaft mit einem Polyphenolgehalt von 1 g/d ein Anstieg um 11 Prozent, nach Rotweinpolyphenolkapseln mit einem Polyphenolgehalt von 2 g/d ein Anstieg um 15 Prozent und nach Einnahme von Vitamin E mit 1000 IE/d ein Anstieg um 7 Prozent). Somit wird postuliert, dass neben Rotwein auch Rotweinpolyphenolkapseln und Vitamin E- Kapseln antioxidative Eigenschaften besitzen.

Morillas-Ruiz et al. 2005 untersuchten die Auswirkungen von Antioxidantien auf sportbedingten oxidativen Stress nach einer Trainingseinheit. Hierzu wurde eine Spiroergometrie mit Monitoring der Vitalparameter und des Gasaustauschs durchgeführt. Ein polyphenolhaltiges, mit Antioxidantien versetztes Getränk wurde placebokontrolliert vor und während 90-minütigen Radfahrens verabreicht. Es ließen sich weder nach Einnahme von Polyphenolen noch nach Einnahme der Placebosubstanz Konzentrationsänderungen der Lipidperoxidaionsprodukte nachweisen. Für die untersuchten Polyphenole konnten keine antioxidativen Fähigkeiten festgestellt werden.

Esmailzadeh et al. 2004 untersuchten die Auswirkungen einer täglichen Aufnahme von Granatapfelsaft auf das Plasmalipidprofil von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und einer bekannten Fettstoffwechselstörung. Nach achtwöchiger Aufnahme konzentrierten Granatapfelsafts zeigte sich ein reduziertes Gesamtcholesterin bei gleichbleibenden Triglyzerid- und HDL-Konzentration im Serum. Es konnte ein signifikanter fettsenkender Effekt bestätigt werden.

Bei Erlund et al. 2008 konnte die mehrwöchige Aufnahme größerer Mengen gemischter Beeren mit einem Gesamtpolyphenolgehalt von 837 mg/d keine Änderung der Plasmalipide bei 72 Probanden mit kardiovaskulären Risikofaktoren hervorrufen. Es wurden gleichbleibende Triglyzerid- und HDL-Konzentration sowie ein leichter Anstieg des HDL-Cholesterins nachgewiesen.

Naissides et al. 2004 untersuchten die postprandiale Lipidämie. Es wurden 17 Probandinnen mit einer bekannten nicht medikamentös behandelte Fettstoffwechselstörung untersucht. Nach der Aufnahme einer gemischten Mahlzeit in Kombination mit entalkoholisiertem Rotwein oder Wasser wurde keine signifikante Änderung von Gesamtcholesterin-, LDL-, HDL- und Apolipoprotein B 48-Konzentrationen im Plasma gemessen, während sich nach einer gemischten Mahlzeit mit 400 ml Rotwein sogar eine Triglyzeriderhöhung um 35 Prozent und eine Zunahme der Insulinausschüttung um 54 Prozent zeigte. Durch die Einnahme von entalkoholisiertem Rotwein konnte kein fettsenkender Effekt erzielt werden. Alkoholhaltiger Rotwein wirkte sich sogar negativ auf die Plasmalipide aus.

Die Studienergebnisse von Goldberg et al. 1996 wurden im Kapitel 4.3.2 dargestellt. Hinsichtlich der Fettstoffwechsellparameter zeigte sich nach Konsum von Rotwein

sogar ein Anstieg der Serumtriglyzeride, der auch bei Naissides et al. 2004 festgestellt wurde.

Zusammenfassend konnte sowohl durch polyphenolhaltige, alkoholfreie Getränke wie Granatapfelsaft (Aviram et al. 2000), Traubensaft (Albers et al. 2004) und Johannisbeersaft (Nigdikar et al. 1998) als auch durch Polyphenolkapseln (Nigdikar et al. 1998) eine erhöhte antioxidative Plasmakapazität gemessen werden, wohingegen Morillas-Ruiz et al. 2005 keine erhöhte antioxidative Kapazität durch ein während sportlicher Betätigung verabreichtes alkoholfreies, polyphenolhaltiges Getränk messen konnten.

Hinsichtlich des Fettstoffwechsels konnte nur bei Esmailzadeh et al. 2004 eine günstige Modulation der Plasmalipide durch die Einnahme von Granatapfelsaft erzielt werden, während die Einnahme von gemischten Beeren, entalkoholisiertem und normalem Rotwein keine positive Beeinflussung des Fettstoffwechsels bewirkte (Erlund et al. 2008, Goldberg et al. 1996, Naissides et al. 2004).

Die Ergebnisse im Hinblick auf antithrombotische Eigenschaften polyphenolreicher Lebensmittel sind widersprüchlich. Während bei Aviram et al. 2000 nach Aufnahme von Granatapfelsaft und bei Freedman et al. 2001 nach Aufnahme von Grapefruitsaft signifikante antithrombotische Eigenschaften gemessen wurden, zeigte sich bei Albers et al. 2004 kein Effekt auf die Thrombozytenadhäsion oder -aggregation durch Traubensaftkonsum.

Hinsichtlich des Antioxidans Vitamin E (=Tocopherol) als Parameter für oxidativen Stress wurden ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse gefunden. In den meisten Studien zeigten sich keine Veränderungen der Vitamin E-Spiegel (Chou et al. 2011, siehe 4.3.1, Chopra et al. 2000, siehe 4.3.2). Carbonneau et al. 1997 zeigten nach Aufnahme alkoholfreier Rotweinpolyphenole eine erhöhte gesamte antioxidative Kapazität. Obgleich eine erhöhte Vitamin-E-Konzentration in LDL-Cholesterin gemessen wurde, konnte für LDL keine erhöhte antioxidative Kapazität gemessen werden (Carbonneau et al. 1997, siehe 4.3.2). Durch die Einnahme Vitamin E-haltiger Kapseln konnte bei Nigdikar et al. 1998 eine erhöhte antioxidative Kapazität gemessen werden. Bei Freedman et al. 2011 wurden nach Einnahme von Granatapfelsaft signifikant erhöhte Alpha-Tocopherol-Spiegel und nicht signifikant erhöhte Gamma-Tocopherol-Spiegel im Plasma gemessen (siehe 4.3.1). Als Erklärung führen die

Autoren die postulierte Eigenschaft der Proanthocyane an, die Membranlipidperoxidation zu verringern und dadurch einem Abfall der Vitamin E-Konzentration entgegen zu wirken. Einschränkend ist zu erwähnen, dass sich der Gesamt-Alpha-Tocopherol-Spiegel bei Freedman et al. 2011 nur geringfügig änderte und nach Meinung der Autoren nicht alleine ursächlich für eine verminderte Thrombozytenaggregation sein kann. Bei Probanden mit Typ 2-Diabetes mellitus, die Muskattraubensaft erhielten, wurde eine niedrigere Vitamin-E-Aufnahme als bei anderen Subgruppen gesunder Probanden, die Muskatwein erhielten, gemessen (Banini et al. 2006, siehe 4.3.2).

### **4.3.4 Einfluss von Anthocyanen auf das harnableitende System**

Aufgrund des hohen Polyphenolgehalts wird Cranberrysaft oft zur Prävention von Harnwegsinfekten empfohlen. Mehrere Studien bestimmten die antibakteriellen Eigenschaften (die unter anderem den enthaltenen Proanthocyanen und den Flavanolen Catechin und Epicatechin zugeschrieben werden) durch in vitro Untersuchungen der Bakterienadhäsion an das Urothel der Blase sowie durch in vivo Untersuchungen von Urinkulturen.

In einer Studie mit 20 Probanden wurde bei Di Martino et al. 2006 nach einer Einzeldosis Cranberrysaft eine in vitro Reduktion der Escherichia coli (E. coli) Adhäsion an das Urothel der Blase beobachtet und ein geringeres Bakterienwachstum in der Urinkultur festgestellt.

Greenberg et al. 2005 untersuchten in einer Pilotstudie anhand von fünf Probandinnen mit positiver Urinkultur die E. coli Adhäsion an das Urothel der Blase. Dafür wurde ein Mannose-resistenter Hämagglutination-Assay verwendet. Nach einmaliger Einnahme von 42,5 g getrockneter Cranberries konnte auch in dieser Studie eine erhöhte antiadhärente Aktivität im Urin verzeichnet werden, während dies nach Konsum von Rosinen in gleicher Menge nicht nachgewiesen werden konnte. Die Autoren sehen getrocknete Cranberries zur Prävention eines Harnwegsinfektes als mögliche Alternative zu Cranberrysaft.

Bei Lavigne et al. 2007 wurden die Auswirkungen einer mittelfristigen Anthocyaneinnahme auf die Bakterienadhäsion in vitro und im Tierversuch analysiert. Nach Einnahme der Cranberrykapseln über 3 Wochen täglich konnte in vitro eine

dosisabhängige, reduzierte Bakterienadhäsion verzeichnet werden. In einem in vivo Modell konnte darüber hinaus eine herabgesetzte Fähigkeit uropathogener *E. coli* Bakterienstämme gegenüber dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* gezeigt werden. Das untersuchte Cranberrypräparat bewirkte eine gesteigerte antiadhäsive Fähigkeit in vitro sowie eine herabgesetzte Pathogenität in vivo im Tierversuch.

Kontiokari et al. 2001 untersuchten die Auswirkungen einer längerfristigen Einnahme von Anthocyanen bzw. von Probiotika auf die Inzidenz von Harnwegsinfekten. Hierzu nahmen 50 Probandinnen täglich einen Cranberry-Preiselbeer-Saft für sechs Monate und weitere 50 Probandinnen ein mit *Lactobacillus* angereichertes Joghurtgetränk für zwölf Monate ein. Die 50 Probandinnen der Kontrollgruppe erhielten keine Testsubstanz. Bezüglich des Polyphenolgehalts wurden in der Studie keine Angaben gemacht. Nach sechs Monaten ereigneten sich bei den Probandinnen, die Cranberry-Preiselbeer-Saft eingenommen hatten, lediglich acht Harnwegsinfekte (16 Prozent). Es traten 19 Harnwegsinfekte bei den Probandinnen auf, die das Joghurtgetränk eingenommen hatten (38 Prozent) verglichen mit 18 Harnwegsinfekten in der Kontrollgruppe (36 Prozent). Nach Einnahme von Cranberrysaft traten somit signifikant weniger Harnwegsinfekte als in den anderen beiden Subgruppen auf, was die antibakteriellen Eigenschaften von Cranberry-Preiselbeer-Saft widerspiegelt.

Die Inzidenz von Harnwegsinfekten unter Cranberrysafteinnahme wurde bei McMurdo et al. 2005 placebokontrolliert anhand einer geriatrischen Population mit 376 Probanden untersucht. Die Versuchsgruppe bestand aus 122 Frauen und 65 Männern, die Kontrollgruppe aus 133 Frauen und 56 Männern. Das Alter der Probanden betrug mindestens 60 Jahre, im Durchschnitt 81 Jahre. Es wurden täglich 300 ml Cranberrysaft eingenommen. Der primäre Endpunkt der Studie war das Auftreten eines Harnwegsinfektes, belegt durch eine positive Urinkultur. Die Studie wurde über maximal 35 Tage durchgeführt. Es ereigneten sich 21 symptomatische Harnwegsinfekte bei 376 Probanden (5,6 Prozent), wobei sieben der Harnwegsinfekte in der Versuchsgruppe und 14 in der Kontrollgruppe auftraten. Hinsichtlich des Keimspektrums wurde *E. coli* in der Versuchsgruppe signifikant seltener als Erreger diagnostiziert als in der Kontrollgruppe. Nach Ansicht der Autoren kann eine regelmäßige Cranberrysafteinnahme die Häufigkeit antibiotischer Behandlungen verringern und damit die Antibiotikaresistenzentwicklung begrenzen oder



verlangsamen. Die Studie ist jedoch trotz der großen Subgruppen aufgrund einer insgesamt niedrigen Inzidenz von Harnwegsinfekten nur eingeschränkt aussagekräftig.

Morris & Stickler et al. 2001 untersuchten ex vivo anhand eines Blasendauerkathetermodells, ob die Einnahme von Cranberrysaft die adhäsiven Eigenschaften von Bakterien herabsetzen und somit bakteriellen Infektionen des harnableitenden Systems verhindern kann. Die Probanden nahmen Wasser oder Cranberrysaft zu sich. Anschließend wurden Labormodelle einer katheterisierten Blase mit dem Urin der Probanden und dem Bakterium *Proteus mirabilis* für 24 bzw. 48 Stunden inkubiert. Das Ausmaß der Inkrustation des Blasenkatheters wurde durch die chemische Analyse der Calcium- und Magnesiumkonzentration ermittelt und der *Proteus-mirabilis*-Biofilm mittels Elektronenmikroskop visualisiert. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Calcium- und Magnesiumkonzentration zwischen der Aufnahme von Cranberrysaft und Wasser. Entgegen der Hypothese, Cranberrysaft habe antiadhäsive Eigenschaften, zeigte sich sogar eine geringere Inkrustation des Blasenkatheters durch die Aufnahme einer gleichen Menge Wasser. Blasenkateter, die mit Urin inkubiert wurden, der durch eine Flüssigkeitsaufnahme von 750 ml über 24 Stunden entstanden war, verstopften nach 42,5 Stunden. Blasenkateter, die mit Urin inkubiert wurden, der durch eine Flüssigkeitsaufnahme von 4320 ml über 24 Stunden entstanden war, blieben hingegen für mindestens zehn Tage durchgängig ohne zu verstopfen. Demzufolge wirkt sich nach Meinung der Autoren eine erhöhte Flüssigkeitsaufnahme positiv auf ein geringeres Bakterienwachstum am Blasendauerkatheter aus. Die Aufnahme von Cranberrysaft hingegen zeigte keine vorbeugenden Effekte hinsichtlich der Entwicklung eines Biofilms am Kathetermaterial.

Eine doppelblinde, placebokontrollierte Crossover-Studie von Schlager et al. 1999 untersuchte, ob die Inzidenz symptomatischer Harnwegsinfekte oder die Inzidenz einer asymptomatischen Bakteriurie bei Kindern mit einer neurogenen Blasenentleerungsstörung durch Cranberrysaftkonsum gesenkt werden kann. Sieben Jungen und acht Mädchen zwischen zwei und 18 Jahren erhielten hierzu für drei Monate täglich 60 ml eines handelsüblichen Cranberrysafts bzw. Wasser als Placebogetränk. Es ereigneten sich sowohl nach Einnahme von Cranberrysaft als

auch nach Einnahme von Wasser jeweils drei Harnwegsinfekte. Die Prävalenz der Bakteriurie betrug in beiden Gruppen jeweils 75 Prozent, wobei in der Versuchsgruppe 43 Prozent der Erreger *E. coli* Bakterien waren, verglichen mit 47 Prozent *E. coli* Bakterien in der Placebogruppe. Der Urin-pH änderte sich nach Einnahme der beiden Testgetränke nicht signifikant. Die Anthocyane hatten demzufolge nach Meinung der Autoren keine Auswirkung auf die Bakterienadhäsion in vivo. Positive Auswirkungen durch Cranberrysaftkonsum konnten in diesem Probandenkollektiv nicht bestätigt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei Di Martino et al. 2006 und Greenberg et al. 2005 für Cranberrysaft und getrockneter Cranberries eine erhöhte antiadhärente Aktivität in vitro gezeigt werden konnte. Dies wurde auch nach Cranberrysafteinnahme über einen mehrwöchigen bzw. mehrmonatigen Zeitraum sowie durch ein älteres Probandenkollektiv in vivo gezeigt (Lavigne et al. 2007, Kontiokari et al. 2001, McMurdo et al. 2005). Die Erreger waren nach Einnahme von Cranberrysaft seltener *E. coli* Bakterien (McMurdo et al. 2005, Schlager et al. 1999) bzw. zeigten eine herabgesetzte in vivo Pathogenität (Lavigne et al. 2007). Bei Patienten mit Blasendauerkatheter und bei Kindern mit einer neurogenen Blasenentleerungsstörung konnten hingegen keine positiven Auswirkungen von Cranberrysaft hinsichtlich der Entwicklung von Harnwegsinfekten nachgewiesen werden (Morris & Stickler 2001, Schlager et al. 1999). Eine erhöhte Flüssigkeitsaufnahme zeigte sich teilweise effektiver als die Einnahme von Cranberrysaft (Morris & Sticker 2001). In allen Studien wurde eine exakte Dosisangabe der Testsubstanzen gemacht (siehe Anhang 1), in den meisten Studien wurde jedoch keine exakte Aussage über den Anthocyangehalt der Testsubstanzen getroffen (Greenberg et al. 2005, Kontiokari et al. 2001, Lavigne et al. 2007, Morris & Stickler et al. 2001, Schlager et al. 1999). In einigen dieser Fällen wurde handelsüblicher Cranberrysaft verwendet, bei dem der Hersteller keine Angaben über den Polyphenolgehalt lieferte (Morris & Stickler et al. 2001, Schlager et al. 1999).

Zwei der ausgewählten Studien untersuchten den Einfluss von Cranberrysaft auf die Nierensteinbildung. Die Überschreitung des Löslichkeitsproduktes führt zur Steinbildung in den ableitenden Harnwegen. Die Calcium- und Oxalatkonzentration im Urin sind dabei entscheidend im Hinblick auf die Bildung von Calciumoxalatsteinen.

Die Calciumkonzentration und der pH- Wert beeinflussen die Bildung der Calciumphosphat- und Brushitsteine und der pH-Wert ist zudem ausschlaggebend bei der Bildung von Harnsäuresteinen (Knauf 2014).

Bei Gettman et al. 2005 wurden Calcium-, Magnesium-, und Oxalatkonzentrationen in Blut und Urin nach einwöchiger täglicher Einnahme von Cranberrysaft bestimmt. Dabei wurden zwölf Personen mit Calciumoxalatsteinbildung in der Vorgeschichte und zwölf Personen ohne Vorerkrankungen als Probanden gewählt. Es zeigten sich in beiden Versuchsgruppen nach Cranberrysaftkonsum eine Erhöhung der Calcium-, Oxalat- und Magnesiumkonzentrationen und ein Abfall der Ammoniakkonzentration im Urin. Der pH-Wert des Urins sank um 0,3. Hinsichtlich des Risikos einer Nierensteinbildung erbrachte die Studie gemischte Resultate: Durch erhöhte Calcium- und Oxalatkonzentrationen im Urin nach Cranberrysaftkonsum stieg die Oxalatsteinbildung um 18 Prozent, gleichzeitig sank durch eine verminderte Phosphatkonzentration im Urin das Risiko einer Brushitsteinbildung um 23 Prozent. Nach Einschätzung der Autoren war die im Cranberrysaft enthaltene Menge Magnesium von 9 mg/d zu gering, um die Calciumoxalatsteinbildung zu reduzieren. Die Serum- und Urinharnsäurespiegel sanken unter Cranberrysafteinnahme. Insgesamt schließen die Autoren daraus, dass die Einnahme von Cranberrysaft eine Nierensteinbildung nicht relevant beeinflusst.

McHarg et al. 2003 untersuchten in einer randomisierten Crossover-Studie die Bildung von renalen Calciumoxalatsteinen bei 20 jungen, gesunden Probanden. Diese erhielten als Testsubstanz 2000 ml Leitungswasser oder 500 ml handelsüblichen Cranberrysaft täglich für jeweils zwei Wochen. Gemäß den hier erhaltenen Resultaten senkt Cranberrysaft die renale Oxalat- und Phosphatausscheidung und erhöht die Citratausscheidung. Somit wirkt die Einnahme von Cranberrysaft antilithogen. Abweichend zu anderen Publikationen wurde eine Erhöhung des pH-Wert des Urins verzeichnet. Die Autoren vermuten die Ursachen in veränderten Essgewohnheiten.

### **4.3.5 Andere positive Eigenschaften von Anthocyanen**

Neben kardiovaskulären, antiatherogenen, antioxidativen und antibakteriellen Eigenschaften wurden in einigen Studien auch Auswirkungen von Anthocyanen auf die Neurokognition (Crews et al. 2005) oder das Sehvermögen (Nakaishi et al. 2000)

untersucht, sowie Zusammenhänge zwischen einer Anthocyanaufnahme und der Besiedlung durch *Helicobacter pylori* (H.p.) (Gotteland et al. 2008). Darüber hinaus beschäftigten sich einige Studien mit den Auswirkungen einer regelmäßigen Aufnahme von Anthocyanen im Hinblick auf die Entstehung und den Verlauf onkologischer Erkrankungen (Greenlee et al. 2004, Pantuck et al. 2006). Im Folgenden werden die genannten Studien kurz vorgestellt.

In einer doppelblinden placebokontrollierten Studie von Crews et al. 2005 wurde die Merkfähigkeit 50 älterer Personen ohne dementielle Vorerkrankung oder neurokognitive Einschränkungen zu Beginn und nach sechswöchigem täglichen Konsum von einem Liter Cranberrysaft untersucht. Es zeigte sich lediglich eine nicht signifikante subjektive Verbesserung der Merkfähigkeit bei neun Probanden in der Versuchsgruppe, verglichen mit vier Probanden der Placebogruppe. Somit zeigten sich durch Cranberrysaftaufnahme keine objektivierbaren kurzfristigen Effekte auf die Neurokognition.

Probiotika und Cranberrysaft hemmen in vitro das Wachstum des Bakteriums *Helicobacter pylori*. Der Mechanismus beruht bei Probiotika auf Bacteriocin (Bernet-Camard et al. 1997, Gotteland et al. 2006, Michetti et al. 1999) und bei Cranberrysaft auf Proanthocyanidinen (Burger et al. 2000, Chatterjee et al. 2004, Lengsfeld et al. 2004). In einer Studie mit 271 mit H.p. infizierten Kindern (belegt durch einen positiven <sup>13</sup>C-Urease-Atemtest) wurde im Rahmen einer Studie von Gotteland et al. 2008 untersucht, ob durch die gleichzeitige Einnahme von Cranberrysaft und *Lactobacillus johnsonii* ein synergistischer Effekt auf die H.p.-Eradikationsrate erreicht werden kann. Die Einnahme der Testsubstanzen *Lactobacillus johnsonii*, Cranberrysaft und eines Placebos erfolgte in unterschiedlichen Kombinationen über drei Wochen täglich. Nach gleichzeitiger Aufnahme von Cranberrysaft und *Lactobacillus johnsonii* wurde eine H.p.-Eradikationsrate von 22 Prozent festgestellt, während sich nach alleiniger Einnahme von *Lactobacillus johnsonii* eine H.p.-Eradikationsrate von 14,9 Prozent und nach alleiniger Einnahme von Cranberrysaft eine H.p.-Eradikationsrate von 16 Prozent zeigte. Unter Einnahme eines anthocyan- und probiotikafreien Placebogetränks wurden 1,5 Prozent H.p.-Eradikationen beobachtet. Sowohl *Lactobacillus johnsonii*, als auch Cranberrysaft erwiesen sich als günstig bei der Behandlung H.p. positiver Patienten.

Nakaishi et al. 2000 untersuchten den Einfluss von Anthocyanen auf die Dunkeladaptation des Auges. Die Bilderzeugung im Auge erfolgt auf der Netzhaut. Die Lichtsignalverstärkung findet in den so genannten Zapfen und Stäbchen statt. Dabei sind die Zapfen bei ausreichendem Licht für das Hellsehen und die Stäbchen für das Dunkelsehen verantwortlich. Zur Dunkeladaptation wird die Empfindlichkeit der Zapfen erhöht. Das photopische Sehen (Hellsehen) geht am Ende der Zapfenadaptation nach etwa 10 Minuten in das skotopische Sehen (Dämmerungs- und Nachtsehen) über. Die Stäbchenadaptation dauert aufgrund der notwendigen Neusynthese von Rhodopsin circa 60 Minuten (Klinke et al. 2009). Sekundäre Pflanzenfarbstoffe können die Regeneration von Rhodopsin beschleunigen (Matsumoto et al. 2003). Der doppelblind, placebokontrollierten Studie von Nakaishi et al. 2000 zufolge verkürzten Anthocyane der schwarzen Johannisbeere in einer Einzeldosis von 50 mg (verabreicht als Kapsel) die Dunkeladaptationszeit nach Blendung: Hierzu wurde die Dunkeladaptationszeit vor und zwei Stunden nach Einnahme der Testsubstanz mit Hilfe eines Goldmann-Weekers Adaptometers gemessen. Zwölf gesunde Probanden wurden befragt, bei welcher Beleuchtungsstärke ein schwach beleuchtetes schwarz-weißes Streifenmuster gerade noch erkannt werden konnte. Nach einmaliger Einnahme von 50 mg Johannisbeeren war eine signifikant geringere Helligkeit notwendig, um das Muster zu erkennen. Geringere Mengen führten zu keinen signifikanten Effekten. In einem zweiten Studienteil wurden 21 Probanden in einem Crossover-Design 200 ml Johannisbeersaft (erneut mit einem Anthocyangehalt von 50 mg) bzw. ein Placebogetränk verabreicht. Nach Einnahme der Testsubstanz wurde ein nach der Kraemplin-Testmethode modifizierter Zähltest an einem Bildschirmgerät durchgeführt. Die Einmaleinnahme von Anthocyanen in Form von Johannisbeersaft sorgte bei den Probanden für den Erhalt der Refraktionswerte des dominanten Auges nach einem Sehtest, während die Refraktionswerte in der Placebogruppe signifikant abnahmen. Anthocyane können somit einer Myopisierung bei längerer Bildschirmarbeit vorbeugen.

Zwei der ausgewerteten Studien untersuchten die Auswirkungen einer regelmäßigen Einnahme sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe beim Vorliegen einer onkologischen Grunderkrankung.

Bei Pantuck et al. 2006 wurde untersucht, ob sich eine monatelange regelmäßige Einnahme von Granatapfelsaft auf den Progress eines Prostatakarzinomrezidivs auswirkt. Ein Anstieg des prostataspezifischen Antigens PSA im Serum bedeutet das Fortschreiten der Erkrankung. In der offenen, einarmigen Studie über 13 Monate konnte die PSA-Verdopplungszeit unter täglicher Einnahme von Granatapfelsaft signifikant verlängert werden. Sie stieg im Durchschnitt von 15 Monate auf 54 Monate. Diese Studie gibt Anlass, antikanzerogene Eigenschaften von Polyphenolen anzunehmen. Nach Ansicht der Autoren sind placebokontrollierte Studien notwendig, um dies zu bestätigen.

Bisherige Studien beschrieben zwar den Gebrauch von Nahrungsergänzungsmitteln (Harris & Rees 2000, Patterson et al. 2002), gaben jedoch keinen Aufschluss darüber, welche Art von Nahrungsergänzungsmittel Patienten mit einer onkologischen Vorerkrankung einnehmen und inwiefern sich der Gebrauch von Nahrungsergänzungsmitteln durch gesunde Probanden und durch Probanden mit onkologischen Vorerkrankungen unterscheidet. In einer Querschnittskohortenstudie von Greenlee et al. 2004 mit 64226 Probanden in der Versuchs- und 10875 Probanden in der Kontrollgruppe wurde die Aufnahme von Nahrungsergänzungsmitteln durch gesunde und onkologisch vorerkrankte Probanden anhand einer Erhebung und Auswertung eines Fragebogens untersucht. Es wurde die Einnahme von zehn Vitaminen, sechs Mineralien und 20 pflanzlichen Präparaten abgefragt, darunter unter anderem Proanthocyanidine, Isoflavone, Johanniskraut, Cranberrykapseln, Ginkgo biloba und Ginseng. Die am meisten konsumierten Nahrungsergänzungsmittel stellten Multivitaminpräparate, Vitamin C, E und Calcium dar. Probandinnen mit Mammakarzinom in der Vorgeschichte nahmen signifikant mehr Calcium und Vitamin E ein als nicht vorerkrankte Probandinnen. Patienten mit Urothelkarzinom in der Vorgeschichte nahmen signifikant häufiger Cranberrykapseln ein als die gesunde Vergleichsgruppe. Probandinnen mit Ovarialkarzinom konsumierten signifikant häufiger Zink als gesunde Probandinnen. Probanden mit Prostatakarzinom nahmen signifikant häufiger Soja in Form von Nahrungsergänzungsmitteln ein. Probandinnen mit Zervixkarzinom in der Vorgeschichte nahmen signifikant häufiger Melatonin ein, bei Schilddrüsenkarzinom in der Vorgeschichte wurde signifikant häufiger Vitamin D und bei Kolonkarzinom in der Vorgeschichte wurde signifikant häufiger Vitamin A

eingenommen als in der Vergleichspopulation. Insgesamt verwendeten onkologische Patienten laut Studienlage von Greenlee et al. 2004 aber nicht signifikant häufiger Nahrungsergänzungsmittel als gesunde Probanden. Pflanzliche Präparate wurden von beiden Subgruppen in hohem Maße konsumiert - nach Ansicht der Autoren ist dies aber möglicherweise dem spezifischen Studienkollektiv geschuldet. Die Autoren verweisen auf die Wichtigkeit weiterer Studien zur besseren Einschätzung von Risiken und Nebenwirkungen von Nahrungsergänzungsmitteln.

### **4.4 Negative Eigenschaften von Flavonoiden in vivo**

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe können durch eine Interaktion mit anderen Substanzen oder durch eine Beeinflussung von Stoffwechselprozessen unerwünschte Nebenwirkungen verursachen. Es wurden fünfzig Studien hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Nebenwirkungen nach Einnahme polyphenolhaltiger Testsubstanzen analysiert.

In vierzehn von fünfzig Studien wurde nach unerwünschten Nebenwirkungen gefragt. Dabei dokumentierten acht Studien leichte Nebenwirkungen (Arendt et al. 2005, Chrubasik et al. 2008, Heber et al. 2007, Herrera-Arellano et al. 2007, Kiviniemi et al. 2007, Kontiokari et al. 2001, McMurdo et al. 2005, Mohammed Abdul et al. 2008), wobei in vier dieser Studien Nahrungsergänzungsmittel verabreicht worden waren (Chrubasik et al. 2008, Heber et al. 2007, Herrera-Arellano et al. 2007, Mohammed Abdul et al. 2008) und in den anderen vier Studien flavonoidhaltige Lebensmittel wie Cranberrysaft und Rotwein (Arendt et al. 2005, Kiviniemi et al. 2007, Kontiokari et al. 2001, McMurdo et al. 2005).

Elf Autoren hielten ihre Probanden dazu an, ein Ernährungstagebuch zu führen. Die Mehrheit der Studienautoren gaben für den Zeitraum der Versuchsdurchführung Anweisungen zur Ernährung, meist sollte die Ernährung der Probanden möglichst polyphenolarm erfolgen. In neun Studien sollte explizit auf Nahrungsergänzungsmittel verzichtet werden. Eine Fortführung der bisherigen Ernährungsgewohnheiten sahen nur sechs der fünfzig untersuchten Studien vor. Die Autoren von neun der untersuchten Studien kontrollierten die Compliance der Probanden. Zwanzig der fünfzig untersuchten Studien gaben keine Auskunft über die Existenz eines Ernährungstagebuchs oder die Prüfung der Compliance.

#### **4.4.1 Verträglichkeit von Flavonoiden**

Durch anthocyanhaltige Nahrungsergänzungsmittel traten bei Einnahme von Holunderbeeren- und Hibiskuskapseln Kopfschmerzen, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Schwindel, Sehstörungen, Nervosität und gastrointestinale Beschwerden auf (Chrubasik et al. 2008, Herrera-Arellano et al. 2007).

Durch anthocyanhaltige Lebensmittel wurden Kopfschmerzen (Kiviniemi et al. 2007), ein bitterer Geschmack bei Einnahme von Cranberrysaft (Kontiokari et al. 2001), gastrointestinale Beschwerden, Juckreiz und eine Blutzuckerentgleisung (bei vorbekanntem Diabetes mellitus) verursacht (McMurdo et al. 2005). In einer Studie wurde berichtet, dass einer der vier Probanden das Testgetränk, entalkoholisierten Rotwein, nicht vertragen habe (Arendt et al. 2005).

In fünf Studien kam es nach Angaben der Autoren zu keinerlei Nebenwirkungen durch die Testsubstanz (Crews et al. 2005, Farkas et al. 2007, Pantuck et al. 2006, Papamichael et al. 2004, Papamichael et al. 2006). In diesen Studien waren Rotwein und entalkoholisierter Rotwein über drei Tage (Papamichael et al. 2004, Papamichael et al. 2006), handelsüblicher Cranberrysaft über sechs Wochen (Crews et al. 2005) und handelsüblicher Granatapfelsaft über 13 Monate (Pantuck et al. 2005) verabreicht worden. Die Probanden waren nicht vorerkrankt, mit Ausnahme der Studie von Pantuck et al. 2006, die mit Patienten mit einem Prostatakarzinom-Rezidiv arbeiteten. In einigen Studien sind keine detaillierten Informationen über das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen enthalten. In den Studien, in denen Probanden befragt wurden, konnten lediglich leichte Nebenwirkungen festgestellt werden.

Da sich Nahrungsergänzungsmittel einer wachsenden Beliebtheit erfreuen, werden diese im Folgenden hinsichtlich ihrer Sicherheit eingestuft.

Eine Beobachtungsstudie von Chrubasik et al. 2008 untersuchte einerseits die Sicherheit einer hypokalorischen Diät mit Nahrungsergänzungsmitteln aus schwarzen Holunderbeeren und Gemüsespargel und andererseits die kurzfristige Wirksamkeit und Effektivität der Diät hinsichtlich einer gewünschten Gewichtsreduktion. Die Testsubstanzen wurden täglich über 14 Tage in Form frisch gepressten Holunderbeerensafts, Holunderblütenextrakts und als getrocknetes Beerenpulver und Spargelpulver in Tablettenform zusätzlich zu Flohsamen eingenommen. Der Body Mass Index (BMI) sowie der systolische und diastolische Blutdruck sanken signifikant.



Die subjektive Lebensqualität besserte sich leicht. Unerwünschte Nebenwirkungen wurden nicht berichtet. Somit gehen die Autoren von einer guten Verträglichkeit der in ihrer Studie untersuchten Nahrungsergänzungsmittel aus.

Zur Bewertung der Sicherheit eines ellagitanninhaltigen Nahrungsergänzungsmittels bei adipösen Probanden wurde die antioxidative Aktivität vor und nach Einnahme von Kapseln aus Granatapfelextrakt gemessen (Heber et al. 2007). Neun der 64 Probanden berichten von elf verschiedenen milden unerwünschten Nebenwirkungen. Nach Einschätzung der Autoren stand keine der Nebenwirkungen in ursächlichem Zusammenhang mit der Testsubstanz. In der Niedrigdosisgruppe (1420 mg/d Ellagitanninextrakt aus Granatäpfeln mit 870 mg Gesamtpolyphenolgehalt) litten zwei der 27 Probanden unter geringen unerwünschten Nebenwirkungen. In der Hochdosisgruppe (2000 mg/d Ellagitanninextrakt mit 610 mg Gesamtpolyphenolgehalt) beschrieben fünf der 28 Probanden unerwünschte Nebenwirkungen. Es kam jedoch auch in dieser Studie dadurch zu keinem Studienabbruch. Bei keinem der 86 Probanden traten allergische Reaktionen auf. Die Autoren stuften das untersuchte Nahrungsergänzungsmittel daher als sicher ein.

Herrera-Arellano et al. 2007 verglichen ein pflanzliches Präparat aus getrocknetem Hibiskusblüten (*H. sabdariffa*), welches u.a. die Anthocyane Delphinidin und Cyanidin enthielt, mit dem ACE-Hemmer Lisinopril hinsichtlich der Effektivität der Blutdrucksenkung, der Sicherheit und der Verträglichkeit. Über einen Zeitraum von vier Wochen wurden die Wirkung des Hibiskusblütenkonzentrats (250 mg/d) bzw. des Medikaments Lisinopril (10 mg/d) an 100 bzw. 93 Probanden untersucht. Im Hinblick auf die Effektivität schnitt Lisinopril besser als das Hibiskusblütenkonzentrat ab: Eine signifikante Blutdrucksenkung gelang unter Lisinopril-Einnahme bei 82 Prozent der Probanden, während dies unter *H. sabdariffa* in nur bei 65 Prozent der Probanden der Fall war. Um die Sicherheit einzuschätzen, erfolgte die Kontrolle der Transaminasen und der Nierenretentionswerte. Es kam zu keiner laborchemischen Veränderung dieser Werte. Hinsichtlich der Verträglichkeit berichten die Autoren von keinen schweren unerwünschten Nebenwirkungen. Drei Probanden brachen die Studie jedoch ab: Jeweils ein Proband in der Versuchs- und Kontrollgruppe erlitt eine hypertensive Entgleisung, was als Therapieversagen der Substanzen interpretiert werden muss. Ein Proband entwickelte nach Einnahme des ACE-Hemmers Lisinopril

ein angioneurotisches Ödem. In beiden Gruppen traten insbesondere in den ersten beiden Wochen der Versuchsdurchführung weitere, milde Nebenwirkungen auf, am häufigsten Kopfschmerzen und verschwommenes Sehen. Darüber hinaus berichteten zwei Probanden der Subgruppe, die das Präparat aus *H. sabdariffa* einnahmen, von Nervosität. Ein Proband der Kontrollgruppe beklagte trockenen Husten und Mundtrockenheit. Die Abbruchquote war in beiden Subgruppen gleich hoch.

Chopra et al. 2000 verabreichten alkoholfreies Rotweinextrakt und das Flavonoid Quercetin in Kapselform zur Evaluation der Lipidperoxidation. Hinsichtlich der Verträglichkeit wurden in der Studie keine genaueren Angaben gemacht. Bei den 22 Probanden kam es aber zu keinem nebenwirkungsassoziierten Studienabbruch.

Insgesamt wurden die untersuchten Nahrungsergänzungsmittel Holunderblütenextrakt-, Hibiskusextrakt-, Spargelpulver-, Quercetin- und Rotweinkapseln sowie ellagitanninhaltige Nahrungsergänzungsmittel als sicher und nebenwirkungsarm bewertet (Chrubasik et al. 2008, Chopra et al. 2000, Heber et al. 2007, Herrera-Arellano et al. 2007). Die aufgetretenen Nebenwirkungen umfassten Nervosität, Kopfschmerzen und verschwommenes Sehen. In keiner der Studien, in denen Nahrungsergänzungsmittel verabreicht wurden, kam es zu einem Studienabbruch infolge von unerwünschten Nebenwirkungen. Einschränkend muss bemerkt werden, dass die Einnahme bei Heber et al. 2007 nur über drei Tage erfolgte, bei Chopra et al. 2000 und Chrubasik et al. 2008 über zwei Wochen und bei Herrera-Arellano et al. 2007 über vier Wochen.

Studienabbrüche wegen unerwünschter Nebenwirkungen traten in den Studien von Arendt et al. 2005, Chrubasik et al. 2008, Herrera-Arellano et al. 2008, Kiviniemi et al. 2007 und McMurdo et al. 2005 auf.

Einer der vier Studienabbrüche bei Arendt et al. 2005 war durch die Unverträglichkeit des Testgetränks bedingt. Im Rahmen der Studie war handelsüblicher Rotwein und entalkoholisierter Rotwein über sechs Wochen an 76 gesunde Probanden verabreicht worden. Von den Autoren werden keine genaueren Angaben über die Beschwerdesymptomatik gemacht.

Die Studie von Chrubasik et al. 2008 beendeten 80 der 90 Probanden. Sie erhielten über zwei Wochen täglich Kapseln mit Holunderblütenextrakt und Spargelpulver. 23 der 80 Probanden hielten sich nach eigener Aussage dabei nicht an die Diät-Vorgaben.

Sechs Probanden brachen die Studie wegen Noncompliance selbst ab, ein Proband erschien nicht am letzten Studientag und drei Probanden brachen die Studie aufgrund von Nebenwirkungen ab: Ein Proband litt unter einer schon vor Versuchsdurchführung bestehenden Diarrhoe, die Nebenwirkungen in den anderen beiden Fällen wurden von den Autoren nicht genannt. Insgesamt wurden 79 verschiedene Nebenwirkungen notiert, wie Migräne in 28 Fällen, Abgeschlagenheit und Müdigkeit in 13 Fällen, Schwindel in 7 Fällen, Kältegefühl in 6 Fällen, Übelkeit und Erbrechen in 5 bzw. 2 Fällen, Diarrhoe in 4 Fällen und Obstipation in 3 Fällen. In jeweils einem Fall wurde von Nervosität, verschwommenes Sehen und Tremor berichtet. Die Autoren werten 77 der 79 verschiedenen Nebenwirkungen als vermutlich substratbedingt. Die Effektivität und Verträglichkeit der Testsubstanz wurde von den Probanden subjektiv als „gut“ oder „sehr gut“ eingestuft.

Die Wirksamkeit eines pflanzlichen Medizinprodukts mit Hibiskusblütenextrakt wurde von Herrera-Arellano et al. 2007 im Hinblick auf dessen antihypertensive Eigenschaften untersucht und mit einer leitliniengerechten Therapie eines ACE-Hemmers verglichen. Ein Proband brach die Studie ab, nachdem sich unter Einnahme des ACE-Hemmers ein angioneurotisches Ödem entwickelt hatte. Jeweils ein Proband in beiden Subgruppen erlitt eine hypertensive Krise, die zum Studienabbruch führte.

Bei Kiviniemi et al. 2007 erhielten 22 gesunde junge Probanden jeweils eine Einzeldosis Rotwein bzw. entalkoholisierten Rotwein. Ein Proband brach die Studie wegen Kopfschmerzen nach Einnahme von Rotwein ab.

Nach Konsum von Cranberrysaft traten in der Studie von McMurdo et al. 2005 bei 13 von 376 Teilnehmern unerwünschte Nebenwirkungen auf (3,45 Prozent der Probanden), die alle zum Studienabbruch führten: Es schieden sechs Probanden der Placebogruppe und acht Probanden der Versuchsgruppe aus.

In 16 Studien kam es zu Studienabbrüchen aus nicht-medizinischen Gründen (Arendt et al. 2005, Chopra et al. 2000, Chrubasik et al. 2008, Crews et al. 2005, Duthie et al. 2005, Esmailzadeh et al. 2004, Farkas et al. 2007, Gotteland et al. 2008, Heber et al. 2007, Herrera-Arellano et al. 2007, Imhof et al. 2008, Kiviniemi et al. 2007, Kontiokari et al. 2001, McMurdo et al. 2005, Mertens-Talcott et al. 2006, Pantuck et al. 2006). Diese erfolgten zum Teil aus persönlichen Gründen, so bei jeweils einem Probanden in den Studien von Chopra et al. 2000 (100 Prozent aller Studienabbrecher dieser

Studie), Herrera-Arellano et al. 2007 (3,8 Prozent) und Duthie et al. 2005 (50 Prozent) sowie bei zwei Probanden in der Studie von Heber et al. 2007 (100 Prozent). Andere Studienabbrüche erfolgten wegen Nichterscheinens am Studientag, so bei einem Probanden bei Arendt et al. 2005 (25 Prozent aller Studienabbrecher dieser Studie), einem Probanden bei Chrubasik et al. 2008 (10 Prozent), 21 Probanden bei Gotteland et al. 2008 (87,5 Prozent) und zwei Probanden bei Mertens-Talcott et al. 2006 (100 Prozent). Noncompliance führte ebenfalls zum Studienabbruch in einem Fall bei Arendt et al. 2005 (25 Prozent aller Studienabbrecher), in drei Fällen bei Crews et al. 2005 (100 Prozent), in vier Fällen bei Esmailzadeh et al. 2004 (100 Prozent), in sechs Fällen bei Chrubasik et al. 2008 (60 Prozent), in 22 Fällen bei Herrera-Arellano et al. 2007 (85 Prozent) und in 48 Fällen bei McMurdo et al. 2005 (41,7 Prozent). In der Studie von Gotteland et al. 2008 schmeckte zweien der Kinder das Testgetränk Cranberrysaft nicht und sie schieden deshalb auf eigenen Wunsch aus der Studie aus (8,3 Prozent). Bei Farkas et al. 2007 kam es insgesamt zu zwei Studienabbrüchen, einmal aus administrativen Gründen und einmal aufgrund nicht verwendbarer Daten in einem Studienarm. Des Weiteren erfolgten Studienabbrüche aufgrund eines Wohnortwechsels (Kontiokari et al. 2001: die „Mehrzahl der 13 Studienabbrecher“, keine exakte Angabe), einer Erkrankung (Arendt et al. 2005: eine Person, 25 Prozent), durch die Anlage eines Blasendauerkatheters (McMurdo et al. 2005: 18 Personen, 15,6 Prozent) sowie aufgrund einer medizinisch indizierten Einnahme eines Antibiotikums im Verlauf der Studiendurchführung (Duthie et al. 2005: eine Person, 50 Prozent, Gotteland et al. 2008: eine Person, 4,1 Prozent), als auch durch Tod von Studienteilnehmern (McMurdo et al. 2005: fünf Personen, 4,3 Prozent).

Die Beweggründe für einen Studienabbruch blieben in machen Studien unbekannt oder ohne nähere Erklärung (Chrubasik et al. 2008 in 20 Prozent der Fälle, Imhof et al. 2008 in 100 Prozent, Kontiokari et al. 2001 bei einem unbekannten Anteil der Studienabbrecher, McMurdo et al. 2005 in 9,5 Prozent, Pantuck et al. 2006 bei 100 Prozent der Studienabbrecher).

In der Mehrzahl der untersuchten Studien beendeten die Probanden die Studie ohne Komplikationen. 32 Prozent der Studien verzeichneten Studienabbrüche, die meist wegen Noncompliance oder aus persönlichen Gründen erfolgten.

Einen Überblick über die polyphenolinduzierten Nebenwirkungen und nebenwirkungsbedingte Studienabbrüche liefert Anhang 6.2.

### **4.4.2 Einfluss von Anthocyanen auf den Medikamentenmetabolismus in vivo**

Farkas et al. 2007 untersuchten in einem fünfarmigen Crossover-Design die Einnahme von anthocyanreichem Granatapfel- oder Grapefruitsaft in Kombination mit dem Medikament Midazolam. Midazolam wurde oral (6 mg) oder i.v. (2 mg) verabreicht und wird vom Enzym CYP3A4 metabolisiert. In vitro konnte jeweils für beide Fruchtsäfte eine CYP3A4-Hemmung festgestellt werden. Der CYP3A4-inhibierende Effekt von Grapefruitsaft wird Dihydroxybergamottin zugeschrieben. Welcher Bestandteil des Granatapfelsafts die Enzymhemmung bedingt, ist unklar. In vivo führt Grapefruitsaft in dieser Studie zu signifikant erhöhten Midazolam-Plasmaspiegeln nach oraler Gabe, bedingt durch einen verzögerten Medikamentenabbau. Für Granatapfelsaft fand sich, entgegen der in vitro erhobenen Befunde, in vivo weder nach oraler noch nach parenteraler Aufnahme eine Änderung der Midazolamclearance.

Mohammed Abdul et al. 2008 untersuchten die gleichzeitige Einnahme unterschiedlicher sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe mit einem Vitamin-K-Antagonisten im Hinblick auf Pharmakodynamik und Pharmakokinetik. Pharmakodynamik beschreibt die Wirkung der Substanzen auf den Organismus, Pharmakokinetik ihre Verteilung und Metabolisierung. Die Studie erfolgte unter Berücksichtigung des CYP2C9- und der VKORC1-Polymorphismus. Für CYP2C9 existiert eine große genetische Vielfalt, da das auf dem Chromosom 10 lokalisierte Gen hochpolymorph ist. Dadurch kann die Enzymaktivität individuell variieren: Je nach Ausprägung des Gens werden langsame, normale und schnelle Metabolisierer unterschieden (Lynch & Price 2007). Der Phänotyp "langsamer Metabolismus" wird durch Defizienzzallele, der Phänotyp "sehr schneller bzw. ultraschneller Metabolismus" durch Genduplikationen verursacht. Es werden signifikante individuelle Schwankungen im Hinblick auf die Pharmakologie verschiedener Substanzen verzeichnet (Kim et al. 2016). So können Medikamentenspiegel nach gleicher Aufnahmemenge bei Personen mit ähnlichem Körpergewicht um das Tausendfache variieren (Leufkens 2000). Durch die Enzymvariabilität werden auf diese Weise bei gleicher Dosierung eines Arzneimittels interindividuelle Unterschiede in der Wirkungsdauer, der Intensität und der

Nebenwirkungen beobachtet. Dies gilt unter anderem für Vitamin-K-Antagonisten. Auf der Basis von Genotypen werden unterschiedliche Dosierungsregimes in Abhängigkeit vom VKORC1- und CYP2C9-Genotyps empfohlen (Li et al. 2006, Rieder et al. 2005, Sconce et al. 2005). Die verschiedenen CYP2C9-Genotypen zeigten bei Mohammed Abdul et al. 2008 keine unterschiedlichen Auswirkungen auf die Interaktion von Warfarin mit den ausgewählten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Die CT- und TT-Mutationen des Gens der K-Epoxid-Reduktase (VKORC1) zeigten sich jedoch anfälliger auf eine Interaktion zwischen Warfarin und Cranberrykapseln als der VKORC1-Wildtyp. Demzufolge sollte eine Dosisanpassung entsprechend des VKORC1-Genotyps erfolgen. Diese Meinung wird auch von anderen Autoren geteilt, die den Warfarinmetabolismus in Abhängigkeit der CYP2C9- und VKORC1-Genotypen untersucht hatten (Dilge Taşkın et al. 2016). Unter Kombination von Cranberrykapseln mit Warfarin wurde, im Gegensatz zur alleinigen Einnahme von Warfarin, eine erhöhte Blutungsneigung beobachtet, die sich sowohl laborchemisch als auch klinisch durch Nasenbluten manifestierte. Des Weiteren trat ein Hauterythem auf. Die Knoblauchkapseln hatte weder einen pharmakodynamischen noch einen pharmakokinetischen Einfluss auf Warfarin.

Insgesamt lässt sich somit aus klinischen Studien ein enzymhemmender Einfluss anthocyanhaltiger Lebensmittel feststellen. Dadurch können Auswirkungen auf den Medikamentenmetabolismus abgeleitet werden. Bei Polymedikation sollte beachtet werden, ob die Einnahme von Anthocyanen möglicherweise eine bestehende (leichte) Medikamenteninteraktion verstärken könnte.

#### **4.4.3 Einfluss von Anthocyanen auf bestehende Medikamenteninteraktionen**

Es ist hinreichend belegt, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, sowohl als herkömmliche Lebensmittel als auch in Form von Nahrungsergänzungsmitteln günstige und ungünstige klinische Effekte hervorrufen (siehe Kapitel 4.3 und 4.4). Darüber hinaus zeigen Studien, dass Polyphenole in vivo in der Lage sind, Cytochromenzyme zu hemmen (Farkas et al. 2007). Auf diese Weise kann es zu Verzögerungen im Medikamentenabbau kommen, und so zu erhöhten Medikamentenspiegeln und entsprechender Wirkverstärkung (Mohammed Abdul et al. 2008). Werden zusätzlich zu den Polyphenolen noch Arzneimittel eingenommen, die

dasselbe Enzym hemmen, verstärkt sich diese Problematik deutlich. Dies ist insofern bedeutsam, da zum einen eine Vielzahl verschreibungspflichtiger Medikamente über den Cytochromenzymkomplex abgebaut wird und zum anderen Polymedikation angesichts der demographischen Entwicklung in Deutschland an der Tagesordnung ist.

Die Kombination eines Enzyminhibitors mit einem Pharmakon mit geringer therapeutischer Breite, welches über das gehemmte Enzym abgebaut wird, kann zu einer Konzentrationserhöhung des Arzneimittels bis hin zu einem Medikamentenspiegel im toxischen Bereich und den entsprechenden klinischen Konsequenzen führen. Im Falle des Cytochromenzyms CYP2C9 sind unter anderem die Medikamente Warfarin, Tolbutamid und Phenytoin zu nennen (Levy 1995, Scheen 2005, Wells et al. 1994). Der CYP2C9-Inhibitor Amiodaron kann durch Komedikation mit dem oralen Antikoagulans Warfarin einen erhöhten Wirkspiegel und somit eine gesteigerte Blutungsneigung verursachen (Heimarck et al. 1992, Lu et al. 2008, Naganuma et al. 2001, Siddoway 2003). Bei gleichzeitiger Einnahme von Amiodaron mit Phenytoin wird aus demselben Grund eine Dosisreduktion von Phenytoin um mindestens 25 Prozent empfohlen (Nolan et al. 1990). Die regelmäßige Einnahme des Antidepressivums und CYP2C9-Hemmers Fluvoxamin bewirken eine verlängerte Halbwertszeit von Diazepam und erhöhte Phenytoin- und Carbamazepinkonzentrationen im Serum (Perucca et al. 1994, Spina & Perucca 2002). Gleichzeitige Einnahmen der CYP2C9-Inhibitoren Cotrimoxazol und Fluconazol mit den oralen Antikoagulantien Phenprocoumon und Warfarin erhöhen das Risiko für gastrointestinale Blutungen (Fischer et al. 2010 bzw. Schelleman et al. 2008, Visser et al. 2002).

Sogar nach alleiniger Einnahme von Cranberrysaft in Kombination mit Warfarin ohne eine zusätzliche Einnahme weiterer Arzneimittel wurden in Einzelfällen ausgeprägte Hämorrhagien beschrieben (Griffiths et al. 2008, Suvana et al. 2003). Gemäß sich daran anschließender Übersichtsarbeiten wird davon ausgegangen, dass große Mengen Cranberrysaft die orale Antikoagulation mit Warfarin destabilisieren können (Aston et al. 2006).

#### **4.4.4 Kritischer Blick auf Phytotherapeutika**

In den Laborversuchen zeigte sich eine Hemmung des Cytochrom P-Enzyms 2C9 durch die untersuchten Anthocyane. Die Auswertung klinischer Studien bestätigt, dass sich sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die über die Nahrung oder Nahrungsergänzungsmittel aufgenommen werden, auch in vivo auf Cytochromenzyme auswirken können. Befragte nennen den Erhalt oder die Verbesserung der Gesundheit als Gründe für die Einnahme sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (Bailey et al. 2013). Dabei nehmen viele Konsumenten aufgrund der „natürliche Inhaltsstoffe“ an, es gäbe keine unerwünschten Nebenwirkungen. Polyphenole in Form von Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln können jedoch neben erwünschten Wirkungen auch unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen. Da der Konsum frei verkäuflicher Nahrungsergänzungsmittel ansteigt, sollte die Möglichkeit des Auftretens ungünstiger Nebenwirkungen in das Bewusstsein der Konsumenten vordringen. Zudem sollte auf die vom Gesetzgeber geforderte Angabe über die empfohlene tägliche Verzehrmenge von Nahrungsergänzungsmitteln geachtet werden, um Überdosierungen zu vermeiden. Wie bereits in Abschnitt 1.2.3 erwähnt, durchlaufen Nahrungsergänzungsmittel im Gegensatz zu Arzneimitteln kein Zulassungsverfahren, sondern unterliegen nur einer Registrierungspflicht beim Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Die Hersteller sind für die Sicherheit der Konzentrate verantwortlich. Die Überwachung der Nahrungsergänzungsmittel und ihrer Herstellerbetriebe obliegt den Lebensmittelüberwachungsbehörden der Länder. Das Bundesinstitut für Risikobewertung nimmt eine Bewertung der Nahrungsergänzungsmittel hinsichtlich ihrer möglichen unerwünschten Nebenwirkungen und Risiken vor.

Die Gefahr einer zu hohen Zufuhr sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe, Vitaminen und Mineralstoffen mit nachteiligen Auswirkungen auf die Gesundheit rechtfertigt die Festlegung sicherer Höchstmengen für in Nahrungsergänzungsmitteln enthaltenen Stoffe. Verbindliche Höchstmengen existieren allerdings derzeit weder auf nationaler noch auf europäischer Ebene. Eine EU-weite Regelung über gültige Höchstmengen für Vitamine und Mineralstoffe befindet sich in Vorbereitung (Homepage des Bundesinstituts für Risikobewertung 2016).



Aufgrund der fehlenden verbindlichen Regularien und der großen Popularität der Nahrungsergänzungsmittel steigt die Häufigkeit einer parallelen Einnahme von Arzneimitteln und Nahrungsergänzungsmitteln. Vor allem die Einnahme sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe kann zu Interaktionen mit Medikamenten führen. Einerseits wird ein Arzt, der diese Medikamente verordnet, vom Patienten häufig nicht über die gleichzeitige Einnahme der Phytotherapeutika in Kenntnis gesetzt (Cascorbi et al. 2012), andererseits ist den Konsumenten die Aufnahme der Pflanzeninhaltsstoffe und deren Wirkung selbst nicht immer bewusst. Pflanzliche Sterole und Stanole beispielsweise werden aufgrund des cholesterinspiegel-senkenden Effekts „normalen“ Lebensmitteln wie Margarine, Milch oder Brot zugesetzt. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit empfiehlt einen täglichen Verzehr von Pflanzensterolen und Pflanzenstanolen von maximal drei Gramm. Werden diese Lebensmittel auch von Personen mit normalen Cholesterinspiegeln verzehrt, können gesundheitsschädigende Effekte auf die Mikrogefäße der menschlichen Netzhaut entstehen (Bundesinstitut für Risikobewertung Berlin 2013, Kelly et al. 2001).

Zur Vorhersage etwaiger pharmakodynamischer Wechselwirkungen können elektronische Verordnungssysteme nützlich sein, die frühzeitig auf Gefahren möglicher Interaktionen aufmerksam machen und die bei Auswahl und Dosierung der Pharmaka Hilfestellung geben (Cascorbi et al. 2012). Im Ausland existieren pharmakoepidemiologische Datenbanken wie zum Beispiel die General Practice Research Database in England, die apothekenbasierte PHARMO-Datenbank in den Niederlanden oder COMPASS in den USA (Leufkens & Urquhart 1995, Müller-Oerlinghausen & Garbe 1998). Als Instrument der Arzneimittelsicherheit ist in Deutschland das System der Spontanberichterstattung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen etabliert (Müller-Oerlinghausen & Garbe 1998). Verdachtsmeldungen unerwünschter Arzneimittelwirkungen sind über eine Datenbank des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) öffentlich zugänglich (Arzbach et al. 2013). Eine ähnliche Plattform für die Erfassung von Nebenwirkungen von Nahrungsergänzungsmitteln wäre sinnvoll.

#### **4.5 Interpretation der Laborergebnisse unter Berücksichtigung der Studienergebnisse**

In vitro konnte v.a. durch die Anthocyane Cyanidin, Ideain, Kuromanin und Keracyanin sowie - in deutlich geringerem Ausmaß - durch Cyanin eine Hemmung des Enzyms CYP2C9 beobachtet werden (siehe Abschnitte 3.1.6 und 3.2.6), welches eine Vielzahl von Medikamenten hepatisch metabolisiert. Auch in anderen Studien wurde in vitro eine enzymhemmende Eigenschaft anthocyanreicher Lebensmittel wie Grapefruitsaft beobachtet (siehe Abschnitt 4.4.2). Anthocyane kommen in hohem Maße in Apfelbeeren, Holunderbeeren, Blaubeeren, schwarze Johannisbeeren, Rotkohl, Kirschen, rote Zwiebeln Grapefruits und Cranberries vor (siehe Abschnitt 3.1.6). Unter anderem anthocyanreiche Säfte aus Cranberry, Grapefruit und Granatapfel erfreuen sich großer Beliebtheit und gelten als gesunde Lebensmittel, so dass sie möglicherweise gerade von vorerkrankten Personen überproportional häufig konsumiert werden. Ein sehr hoher Konsum könnte in vivo analog zu den erhobenen Ergebnissen in vitro zu Wirkverstärkung oder Wirkabschwächung bestimmter Medikamente führen.

Hier stellt sich die Frage nach einer ausreichenden Aufnahme und nach der Bioverfügbarkeit anthocyanhaltiger Lebensmittel. Im Rahmen der betrachteten klinischen Studien wurde den Probanden die Testsubstanzen täglich über mehrere Wochen (Aviram et al. 2001, Chopra et al. 2000, Chrubasik et al. 2008, Crews et al. 2005, Duthie et al. 2005, Ellinger et al. 2008, Freedman et al. 2001, Gotteland et al. 2008, Herrera-Arellano et al. 2007, Hozumi et al. 2008, Lavigne et al. 2007, McHarg et al. 2003, McMurdo et al. 2005, Nigdikar et al. 1998), Monate (Erlund et al. 2008, Esmailzadeh et al. 2004, Goldberg et al. 1996, Kontiokari et al. 2001, Pantuck et al. 2006, Schlager et al. 1999) oder Jahre (Greenlee et al. 2004) verabreicht. Es kann angezweifelt werden, ob ein solcher Konsum realitätsnah ist und ob die Polyphenolaufnahme außerhalb von Studien genauso konsequent erfolgt. Jedoch beschreiben Studien wie Greenlee et al. 2004 retrospektiv durchaus den regelmäßigen, mehrjährigen Gebrauch von Nahrungsergänzungsmitteln durch eine große Studienpopulation. Die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen ist stark abhängig von den einzelnen Substanzen und Substanzklassen. In einigen Studien konnten Metabolite sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe in signifikanter Konzentration nachgewiesen werden

(z.B. Phenolsäuren bei Duthie et al. 2005, Ellagsäuren bei Mertens-Talcott et al. 2006 und Protocatechusäure als Metabolit von Kuromanin bei Vitaglione et al. 2007). Auch nach einer Aufnahme nach Erhitzen konnten Anthocyane weiterhin in signifikanter Konzentration im Serum der Probanden nachgewiesen werden, jedoch in einem geringeren Ausmaß (Gorelik et al. 2008). Dagegen gelang weder bei Cerdá et al. 2004 noch bei Mertens-Talcott et al. 2006 der Nachweis des im Granatapfelsaft enthaltenen Ellagitannins Punicalagin. Möglicherweise bestehen in vivo zahlreiche weitere Faktoren, die die Bioverfügbarkeit beeinflussen. Einige Studien liefern beispielsweise Hinweise darauf, dass sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe nur im Beisein anderer Bestandteile wie Alkohol resorbiert werden und so ihre Wirkung entfalten (Boban et al. 2006, Caccetta et al. 2000, Kiviniemi et al. 2007, Matsuo et al. 2001). Die Analyse der Studienergebnisse zeigt jedoch, dass die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen groß genug ist, um Stoffwechselprozesse in vivo zu beeinflussen und signifikante positive Wirkungen als auch unerwünschte Nebenwirkungen zu erzeugen (siehe Abschnitte 4.3 und 4.4).

Um die Auswirkungen in vivo der Laborergebnisse aus Abschnitt 3 zu interpretieren, sind insbesondere diejenigen Studien interessant, die die simultane Aufnahme von Anthocyanen und Medikamenten untersuchen, welche von CYP2C9 metabolisiert werden. Farkas et al. 2007 konnten die in vitro ermittelte Cytochrom P-Hemmung mittels einem erhöhten Midazolamspiegel in vivo nach zusätzlicher Einnahme von Grapefruitsaft nachweisen. Die simultane Aufnahme von Anthocyanen in Form von Cranberrykapseln und Warfarin bei Mohammed Abdul et al. 2008 hatte einen erhöhten Arzneimittelspiegel im Serum zur Folge, der sich klinisch durch eine erhöhte Blutungsneigung, Nasenbluten, und einem Hauterythem manifestierte. Damit eine entsprechende Dosisanpassung von Medikamenten zuverlässig erfolgen kann, ist eine genaue Kenntnis über das metabolisierende Enzym notwendig. Dabei sind auch Genpolymorphismen zu beachten. Bei einer simultanen Einnahme von Warfarin und Cranberrykapseln zeigen sich beispielsweise unterschiedliche Metabolisierungsraten abhängig von VKORC1-Genotyp. Gemäß den Ergebnissen dieser Studie zeigten jedoch unterschiedliche CYP2C9-Genotypen keine Auswirkungen auf den Metabolismus von Warfarin, bei zeitgleicher Einnahme von Cranberrykapseln. Der Genpolymorphismus für CYP2C9 wurde in dieser Studie mit kleinem

Probandenkollektiv als nicht relevant bei der Interaktion von Cranberrysaft und Warfarin eingestuft (Mohammed Abdul et al. 2008). Weitere Studien mit größerer Probandenanzahl und Untersuchung weiterer Cytochrom-abhängiger Substanzen sind notwendig, um eine sicherere Aussage treffen zu können.

Insgesamt scheint nach Auswertung der klinischen Studien eine ausreichende Bioverfügbarkeit von Anthocyanen im Allgemeinen gegeben, um die Ergebnisse der Laborversuche auf Bedingungen in vivo übertragen zu können. Speziell von den in Abschnitt 2 untersuchten Anthocyanen wurde nur die Bioverfügbarkeit von Kuromanin untersucht jedoch als hoch eingeschätzt (Vitaglione et al. 2007). Somit muss mit einer CYP2C9-Enzymhemmung durch Cyanidin, Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin gerechnet werden. Als Folge können bei gleichzeitiger Einnahme von Medikamenten, welche von CYP2C9 metabolisiert werden, bis in den toxischen Bereich erhöhte Medikamentenspiegel auftreten. Ebenso können bereits bestehende Medikamenteninteraktionen verstärkt werden.

## 5 Zusammenfassung

Anthocyane sind eine Untergruppe der Flavonoide. Flavonoide zählen zu den Polyphenolen, welche Vertreter von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen sind. Sie sind Farbgeber verschiedener Pflanzen-, Obst- und Gemüsearten. In dieser Arbeit wurde *in vitro* untersucht, ob die Anthocyane Cyanidin, Ideain, Kuromanin, Keracyanin und Cyanin das Cytochromenzym CYP2C9 hemmen, welches bei der hepatischen Metabolisierung verschiedener Medikamente eine Schlüsselrolle spielt. Dafür wurden sowohl die halbmaximale Hemmkonzentration als auch die Inhibitionskonstante der verschiedenen Stoffe bestimmt. Im Anschluss daran wurde im Rahmen einer retrospektiven Analyse anderer wissenschaftlicher Arbeiten die Erkenntnisse hinsichtlich Bioverfügbarkeit, positiver gesundheitlicher Wirkungen, Nebenwirkungen und Medikamenteninteraktionen analysiert und geprüft, inwieweit die Ergebnisse der Untersuchung *in vitro* auf Stoffwechselprozesse *in vivo* übertragbar sind.

Im Laborversuch konnte eine konzentrationsabhängige Enzymaktivitätshemmung durch die untersuchten Anthocyane beobachtet werden. Alle gewählten Anthocyane stellen nichtkompetitive Hemmstoffe des Cytochromenzyms CYP2C9 dar. Für Cyanidin wurde eine halbmaximale Hemmkonzentration von 12,02  $\mu\text{M}$  und eine Inhibitionskonstante von 21,80  $\mu\text{M}$  ermittelt. Die entsprechenden Werte von Ideain liegen bei 46,77  $\mu\text{M}$  bzw. 68,88  $\mu\text{M}$ , die von Kuromanin bei 69,18  $\mu\text{M}$  bzw. 43,6  $\mu\text{M}$ , die von Keracyanin bei 109,69  $\mu\text{M}$  bzw. 125,54  $\mu\text{M}$  und die von Cyanin bei 229,09  $\mu\text{M}$  bzw. 185,54  $\mu\text{M}$ . Somit ist das Aglykon Cyanidin der stärkste CYP2C9-Hemmer. Die Anthocyanidin-Monoglycoside Ideain und Kuromanin reihen sich hinsichtlich ihrer jeweiligen halbmaximalen Hemmkonzentration und ihrer Inhibitionskonstante danach ein und zeigen im Vergleich zueinander ein ähnliches Ausmaß an Enzymhemmung. Die beiden Anthocyane mit zwei Zuckersubstituenten, Keracyanin und Cyanin, weisen die geringsten Hemmstärken auf. Je höher dabei die Anzahl der freien Bindungsstellen ist, desto höher scheint die Enzymhemmung zu sein. Es wird ein Zusammenhang zwischen der enzyminhibitorischen Potenz und der Glykosylierung der Moleküle angenommen. Weitere Untersuchungen zur Struktur-Wirkungsbeziehung sollten sich zum Beweis dieser Hypothese anschließen.

Nachdem die Hemmung der Anthocyane auf die Aktivität des Cytochroms CYP2C9 *in vitro* bestätigt werden konnten, wurde im zweiten Teil der Arbeit eine retrospektive

Studienanalyse durchgeführt, um die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen zu analysieren, günstige als auch unerwünschte Effekte zu evaluieren, die durch die Einnahme sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe entstehen, und Hinweise auf eine Enzyminhibition in vivo zu finden. Dabei wurden Studien untersucht, in denen Probanden anthocyanreiche Lebensmittel wie zum Beispiel Cranberrysaft, Granatapfelsaft, Grapefruitsaft oder Rotwein und anthocyanreiche Nahrungsergänzungsmittel wie zum Beispiel Holunderbeer-, Rotwein-, Granatapfel- oder Hibiskuskapseln einnahmen.

Der Nachweis von signifikanten Konzentrationen von Anthocyanen und ihren Metaboliten im Serum und damit der Nachweis einer relevanten Bioverfügbarkeit gelang in klinischen Studien nur teilweise. Es kann somit keine allgemeine Aussage über die Bioverfügbarkeit aller Anthocyane getroffen werden. Die hohe Anzahl von Studien, die über klinische Wirkungen von Anthocyanen in vivo berichten, spricht jedoch für eine ausreichende Bioverfügbarkeit.

Durch die Einnahme anthocyanreicher Getränke konnte unabhängig von einem fakultativ zusätzlich vorhandenen Alkoholgehalt, eine arterielle Vasodilatation und damit positive Effekte auf die koronare Mikrozirkulation verzeichnet werden. Die Mehrzahl der klinischen Studien beschied Rotwein antioxidative Fähigkeiten und sahen die Hypothese des französischen Paradoxons bestätigt. Ob sich diese allein auf die Einnahme von Anthocyanen begründet oder auf die Einnahme von Anthocyanen in Kombination mit Alkohol, bleibt weiterhin unklar. Des Weiteren konnte die Effektivität von Cranberrysaft zur Prävention von Harnwegsinfekten und zur Behandlung Helicobacter-positiver Patienten bestätigt werden. Die dem Cranberrysaft nachgesagten, positiven Effekte auf die Merkfähigkeit konnten nicht objektiviert werden. Kapseln mit Johannisbeerextrakt konnten einer Myopisierung bei längerer Bildschirmarbeit vorbeugen. Antikanzerogene Eigenschaften von Anthocyanen können anhand der Studienlage vermutet werden, bedürfen aber weiterer, placebokontrollierter Studien.

In 14 von 50 untersuchten Studien wurden die Probanden während und nach der Einnahme anthocyanreicher Substanzen nach unerwünschten Nebenwirkungen befragt. In fünf Studien traten keine unerwünschten Nebenwirkungen auf. In diesen Studien waren Rotwein, entalkoholisierter Rotwein, handelsüblicher Cranberry-,

Granatapfel- und Grapefruitsaft verabreicht worden. In acht Studien wurde das Auftreten leichter Nebenwirkungen verzeichnet. In vier dieser Studien wurden anthocyanreiche Lebensmittel und in den anderen vier Studien Nahrungsergänzungsmittel verabreicht. Bei den Lebensmitteln handelte es sich um Cranberrysaft und Rotwein, bei den Nahrungsergänzungsmitteln um Hibiskus-, Holunderbeer- und Cranberryextrakt. Nach Einnahme der anthocyanhaltigen Lebensmittel traten je nach Studie bei ein bis fünf Prozent der Probanden Nebenwirkungen auf. Es wurden Kopfschmerzen, Juckreiz, gastrointestinale Beschwerden und bitterer Geschmack bei Einnahme sowie eine Blutzuckerentgleisung beschrieben. Nach Einnahme der Nahrungsergänzungsmittel traten Nebenwirkungen je nach Studie bei ein bis 19 Prozent der Probanden auf. Im Einzelnen wurden Kopfschmerzen, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Schwindel und Sehstörungen, Nervosität und gastrointestinale Beschwerden beklagt. Schwere Nebenwirkungen traten bei keiner Studie auf. Somit können anthocyanreiche Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel gemäß der Studienlage nach einer kurz- und mittelfristigen Einnahme als sicher und nebenwirkungsarm bewertet werden, sofern diese in moderater Dosierung erfolgt. Die meisten Studien untersuchten die tägliche Einnahme lediglich über wenige Wochen. In nur einer Studie wurde die langjährige, selbstständige Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln untersucht. Der in anderen Laborversuchen ermittelte enzymhemmende Einfluss anthocyanhaltiger Lebensmittel konnte in vivo meist bestätigt werden. Dies äußert sich beispielsweise durch einen erhöhten Medikamentenspiegel nach simultaner Einnahme von Cranberrysaft und Warfarin bzw. von Grapefruitsaft und Midazolam mit entsprechenden klinischen Konsequenzen.

Die insgesamt wahrscheinlich ausreichende Bioverfügbarkeit der in dieser Arbeit untersuchten Anthocyane lässt vermuten, dass eine gleichzeitige Einnahme von Nahrungsmitteln oder Nahrungsergänzungsmitteln in einer entsprechend hohen Anthocyankonzentration und von Medikamenten, die von dem Enzym CYP2C9 metabolisiert werden, ebenfalls einen erhöhten Medikamentenspiegel zur Folge hätte. Je höher das Inhibitionspotenzial eines Anthocyans, desto eher tritt dabei das Problem auf. Somit ist bei Nahrungs- bzw. Nahrungsergänzungsmitteln, die beispielsweise das Aglykon Cyanidin bzw. die Anthocyanidin-Monoglycoside Ideain und Kuromanin in

großen Mengen enthalten, bei gleichzeitiger Einnahme entsprechender Arzneimittel erhöhte Vorsicht geboten. Zusätzliche Probleme können auftreten, wenn bereits mehrere Medikamente eingenommen werden, von denen eines einen CYP2C9-Inhibitor und das andere ein CYP2C9-Substrat darstellt. Werden zusätzlich zu zwei solchen Medikamenten Anthocyane in hinreichender Menge aufgenommen, erhöht sich der Medikamentenspiegel vermutlich weiter, was gravierende Nebenwirkungen zur Folge haben kann.

Die unbekümmerte Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln ist somit kritisch zu sehen. Vor allem Patienten mit Vorerkrankungen, die bereits mehrere Medikamente dauerhaft einnehmen, greifen zur Förderung der Gesundheit häufig zusätzlich zu Nahrungsergänzungsmitteln. Besonders bei älteren Patienten lässt sich zudem oft eine Polymedikation finden. Diese Patientengruppe weist gleichzeitig einige Besonderheiten in Bezug auf die Pharmakokinetik auf, wie zum Beispiel eine veränderte Bioverfügbarkeit, eine Hypalbuminämie, die Reduktion des Extrazellulär Volumens, einer Zunahme des Fettgewebsanteils oder eine verminderten Clearance und Organfunktion, beispielsweise bei Leber- oder Niereninsuffizienz. Durch das Anwachsen dieser Patientengruppe aufgrund der demographischen Entwicklung werden in der Zukunft Interaktionen zwischen Arznei- sowie Lebens- bzw. Nahrungsergänzungsmitteln zunehmen. Ein entsprechendes Problembewusstsein und eine exakte Anamnese bezüglich der regelmäßigen Aufnahme anthocyanreicher Lebens- und Nahrungsergänzungsmittel durch die behandelnden Ärzte ist daher angebracht und notwendig. Hilfreich wäre der Aufbau eines zentralen Registers über Wechselwirkungen zwischen Medikamenten- und Pflanzeninhaltsstoffen.



## 6 Anhang

### 6.1 Anhang 1: Tabellarischer Überblick über die untersuchten klinischen Studien

Albers et al. 2004: „The Antiinflammatory Effects of Purple Grape Juice Consumption in Subjects with Stable Coronary Artery Disease“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Erhöhen Flavonoide den antithrombotischen Effekt von ASS bei kardiovaskulär erkrankten Patienten? Hemmen Flavonoide Thrombozyten-vermittelte Entzündungsprozesse?	Traubensaft PGJ Placebogetränk P	7 ml/kg/d keine Angabe über Flavonoidgehalt	Doppelblinde Crossover- Studie Tägliche Einnahme über 2 Wochen 2 Wochen Auswaschphase	20 Probanden mit neu diagnostizierter KHK mittleres Alter 63 Jahre Alle mit KHK-Medikation, 10 davon mit arterieller Hypertonie. Männer: 17 Frauen: 3 Raucher: 4	Venöse Blutentnahme 1) Messung der Thrombozyten-aggregation mittels ELISA. 2) Messung der Entzündungszeichen im Serum. 3) Messung der Thrombozyten-vermittelten NO-Produktion via Mikroelektrode 4) Messung der Superoxid-Produktion mittels Lucigenin-Detektion	Thrombozyten-aggregation bereits initial durch ASS gehemmt, keine weitere Hemmung durch PGJ oder P. Keine Änderung der P-Selectin-, Thromboxan B2-, NO-Spiegel. Keine Änderung der Entzündungsmarker CRP, Interleukin 8. signifikant niedrigerer Superoxid- und sCD40L- Ausschüttung nach PGJ. HDL Anstieg unter PGJ.

**Arendt et al 2005: „Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen , ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Sind nach einmaliger Aufnahme und nach dauerhaftem Konsum von Rotwein oder DRW antioxidative Fähigkeiten nachweisbar?	Rotwein (RW), entalkoholisierter Rotwein (DRW)	200 ml RW, 175 ml DRW, 200 ml Wasser. RW: 293 mg Gesamtpolyphenole (8,5 mg Malvidin, 1 mg Peonidin). DRW: 272 mg Polyphenole (4,7 mg Malvidin, 0,5 mg Peonidin)	Randomisierte Kontrollstudie Testsubstanz als Einmalgabe (A, n=27) und täglich über 6 Wochen (B, n= 76)	27 (Einzeldosis) bzw. 76 gesunde Probanden (6 Wochen), Nichtraucher Männer: 28 Frauen: 48 (A) mittleres Alter 28 (B) mittleres Alter 28,6	Venöse Blutentnahmen. Messung des Polyphenolgehalts im Serum und der gesamten antioxidativen Kapazität im Plasma. DNA Strangbrüche in peripheren Leukozyten ex vivo mittels Gel- Elektrophorese.	Dauerhafte Erhöhung des Polyphenolgehalts im Blut bei RW, nicht bei DRW. Keine erhöhte antioxidative Fähigkeiten. Widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich DNA- Strangbrüchen.

Aviram et al 2000: „Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Bestehen antioxidative Effekte durch Polyphenole auf die Lipidperoxidation in HDL und LDL?	Granatapfelsaft PJ	<u>1.und 2. Humanstudie:</u> 50 ml/d PJ (äquivalent zu 1,5 mmol Polyphenole) <u>3.Maus-Studie:</u> Verabreichung von 0/ 6,25 µg/ 12, 5 µL PJ / d (äquivalent zu 0/ 0,15/ 0,350 µmol Gesamtpolyphenole)	Zwei verblindete ex vivo Humanstudien, ein Tierversuch  <u>1.Studie</u> Tägliche Einnahme von PJ über 14 Tage  <u>2.Anschlussstudie:</u> Evaluation von 3 Probanden nach PJ-Konsum: 20ml PJ/d für weitere 7 Tage und anschließend 50ml PJ/d für 7 Tage, anschließend 80ml PJ/d für wiederum weitere 7 Tage  <u>3.Maus-Studie:</u> Mäuse ohne Apolipoprotein E in 3 Gruppe zu je 10.	<u>1.Studie:</u> 13 gesunde männliche Probanden. Nichtraucher, mittleres Alter 27  <u>2.Anschlussstudie:</u> 3 der 13 Probanden <u>3.Mausstudie</u> 30 Mäuse (6 Wochen alt)	<u>Humanstudien:</u> Venöse Blutentnahme nach 12h an Tag 7 und Tag 14. Messung u.a. von Lipidperoxiden nach 2 h Inkubation in vitro mit einem Donor freier Radikale <u>Maus-Studie:</u> venöse Blutentnahme in 6.,9.,14. Lebenswoche, Obduktion der Aorta.	Kein Effekt auf das Serumlipidprofil der 13 Probanden und der Mäuse. Erniedrigung der Lipidperoxidation um 6% und Erhöhung des gesamten antioxidativen Potenzials um 9% im Plasma nach 14 Tagen PJ. Konsum vgl mit initialem Serum der 13 Probanden. Weitere 7 Tage (20ml PJ/d) bei 3 Probanden: Abfall des Plasmalipidperoxidgehalts um 11%, danach weitere 7 Tage (50ml PJ/d): Abfall des Plasmalipidperoxidgehalts um 21%. Keine Steigerung durch Erhöhung der PJ- Zufuhr auf 80ml/d. Effekt von PJ auf Lipidperoxidation hielt bis 14 Tage nach Ende der Einnahme an. Antiatherogen durch 1. Reduzierte Lipidperoxidation und 2. Dosisabhängige Verringerung der Thrombozytenaggregation um 90%.

**Banini et al. 2006: „Muscadine grape products intake, diet and blood constituents of non-diabetic and type 2 diabetic subjects.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studien-design Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche Auswirkungen haben der tägliche Konsum von Muskatsaft, Muskattraubenwein oder entalkoholisiertem Wein auf die Glukose- und Insulinausschüttung, die Vitamin C, E-Spiegel und den Fettstoffwechsel gesunder und an Diabetes mellitus erkrankter Probanden?	Muskattraubensaft (MJ), Muskattraubenwein (MW), entalkoholisierter Muskattraubenwein (DMW). Probanden mit Diabetes mellitus konsumierte n MJ (n= 10), MW (n=10) und DMW (n=9). Gesunde Probanden: MJ (n=8). Gesunde Probanden: Kontrollgruppe: keine Testsubstanz (n=15).	150 ml (keine Angaben über Polyphenolgehalt)	Randomisierte kontrollierte Studie, nicht verblindet.  28 Tage	52 Probanden, davon 29 mit Diabetes mellitus Typ 2 23 ohne diabetische Vorerkrankung mittleres Alter 28 Jahre, Übergewicht	Mittels venöser Blutentnahmen Messung verschiedener Laborparameter an Tag 0 und Tag 28.	niedrigere Blutzucker-, Insulin- und Langzeitblutzuckerspiegel bei Diabetikern nach MW und DMW erhöhte Vitamin C und E Spiegel nach DMW bei Diabetikern mehr ungesättigte und weniger gesättigte Fettsäuren in der Hämoglobin-Zellmembran und Rückgang der Transaminasen bei Diabetikern nach RW: Verbesserung des antioxidativen Potentials mittels MW, DMW. Nicht mittels MJ.

Boban et al 2006: „Red wine induced modulation of vascular function: separating the role of polyphenols, ethanol, and urates.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Hat Rotwein einen unmittelbaren Effekt auf die Endothelfunktion in vitro (Aorta einer Ratte) und in vivo bei gesunden Probanden?	Rotwein (RW), entalkoholisierter Rotwein (DRW), Polyphenol-entzogener Rotwein (PSRW), Ethanol (ET), Wasser (W).	<u>Humanstudie:</u> Jeweils einmalige Einnahme der Testsubstanz in einer Menge von 3 ml/kg Körpergewicht, mit Polyphenolgehalt in GAE/L = Gallussäure-äquivalenten:  RW: 2800 GAE/ L DRW: 2790 GAE/L PSRW: 93 GAE/L	<u>Tierstudie:</u> Präparation Aorta von Ratten  <u>Humanstudie:</u> Crossover Design Einmalige Einnahme fünf verschiedener Testsubstanzen, Auswaschphase jeweils eine Woche.	<u>Tierstudie:</u> 20 Ratten <u>Humanstudie:</u> 9 gesunde männliche Probanden, zwischen 25-40 Jahren. Nichtraucher, keine Dauermedikation, keine Fettstoffwechselstörung. 24 h vor Substanzeinnahme kein Koffein, Nahrungsergänzungsmittel, Sport etc.	<u>Tierstudie:</u> Exposition des Aortenendothel mit den Testsubstanzen und Messung der Vasodilatation <u>Humanstudie:</u> Echokardiographie zur Evaluation der flussmodulierten Vasodilatation (FMD) venöse Blutentnahme zur Bestimmung der Catechin-, Urat-, Ethanol-konzentration zum Zeitpunkt 0, 30, 60, 120 min. Herzfrequenz (Hf) und Blutdruck (RR) zum Zeitpunkt 0, 30, 60 min.	<u>Tierstudie:</u> Vasodilatation durch polyphenolhaltige Getränke (RW und DRW). Kein Effekt auf Endothel der Aorta durch PSRW, ET <u>Humanstudie:</u> Serum-Catechinkonzentrationen messbar nach RW, DRW, erwartungsgemäß nicht nach PSRW, E, W. Hf oder RR bei keiner Testsubstanz verändert. RW: signifikanter Anstieg der Vasodilatation (FMD) der A. brachialis. Durch DRW nicht, allerdings zeigt DRW mit wenig Alkoholgehalt (3%) doch Anstieg der FMD. Anstieg von Harnsäure im Serum durch RW, PSRW. Vermutungen: Harnsäure nicht signifikant relevant für Endothelfunktion. Alkohol vermutlich notwendig für die Absorption vasoaktiver Polyphenole.

**Bub et al. 2001: „Malvidin-3-glucoside bioavailability in humans after ingestion of red wine, dealcoholized red wine and red grape juice“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie hoch ist die Bioverfügbarkeit des Anthocyans Malvidin-3-glucosid nach Konsum von Traubensaft bzw. normalem oder entalkoholisiertem Rotwein?	Rotwein (RW) und entalkoholisierter Rotwein (DRW), Traubensaft (TS)	Einzeldosis von 500 ml Malvidin-3-glucosid Gehalt in 500 ml: RW: 68 mg DRW: 58 mg TS: 117 mg	Randomisierte Crossover Studie Auswaschphase 1 Woche	6 männliche gesunde Probanden, Raucher mittleres Alter 31 Jahre	Messung von Malvidin-3-glucosid in Serum und Urin	Nachweis von Malvidin-3-glucosid in Plasma und Urin nach Einnahme aller Getränke. Linearer Zusammenhang zwischen aufgenommener und in Plasma und Urin gemessener Konzentration. Kein signifikanter Anstieg nach RW (288 nmol h/l), DRW (214 nmol h/ l) oder TS (662 nmol h / l).

**Caccetta et al 2000: „Ingestion of red wine significantly increases plasma phenolic acid concentrations but does not acutely affect ex vivo lipoprotein oxidizability.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Können bestimmte Polyphenolsäuren wie Kaffeesäure (3,4-Dihydroxymizinsäure), Protocatechusäure (3,4-Dihydroxy-benzoesäure), 4-O-Methylgallussäure (syn. 3,5-Dihydroxy-4-methoxybenzoesäure) nach Konsum von Rotwein in vivo im Serum nachgewiesen werden und haben diese einen unmittelbaren Effekt auf die LDL-Oxidation ex vivo?	Rotwein (RW), Polyphenolfreier Rotwein (PSRW), entalkoholisierter Rotwein (DRW) und Wasser.	Jedes Getränk in einer Dosierung von 5ml/kg Rotweinäquivalent pro kg Körpergewicht Gesamtpolyphenolgehalt in mg/l: <u>RW</u> : 2014, davon Kaffeesäure 11,04; 3,4-Dihydroxybenzoesäure 1,58; Gallussäure 9,5; 4-O-Methylgallussäure 0. <u>PSRW</u> : 87, davon Kaffeesäure 0,08; 3,4-Dihydroxybenzoesäure 0,04; Gallussäure 0,01; 4-O-Methylgallussäure 0.	Randomisierte Crossover Studie jede Substanz als Einzeldosis über 30 Minuten mit jeweils einer Woche Auswaschphase	12 männliche gesunde Probanden zwischen 40-62 Jahren, Nichtraucher, moderater Alkoholkonsum, keine Dauermedikation, keine Fettstoffwechselstörung.	Venöse Blutentnahme vor Substanzaufnahme sowie 1,2 und 4 Stunden danach. Messung der Plasmakonzentrationen von Kaffeesäure, 3,4-Dihydroxybenzoesäure und 4-O-Methylgallussäure mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie. Ex vivo Messung von Kupfer-induzierter Serum- und LDL-Oxidation Ex vivo Messung der Serumharnsäure	Signifikanter Anstieg von Kaffeesäure und 4-O-Methylgallussäure 4h nach Einnahme von RW und DRW. Kein signifikanter Anstieg von Protocatechusäure Harnsäurespiegel sind in vivo signifikant erhöht nach Konsum von RW, PSRW, DRW. Ex vivo kein Effekt auf LDL- Oxidation nach RW, PSRW, DRW oder Wasser.

**Caccetta et al. 2001: „Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
F2 Isoprostan als Oxidationsprodukt der Arachidonsäure ist ein Marker für eine in vivo Lipid-peroxidation. Wie verändert sich die F2-Isoprostan-Konzentration in Serum und Urin nach Konsum von Rotwein, Weißwein und entalkoholisiertem Rotwein? Ist der postulierte kardioprotektive Effekt des Weinkonsums auf eine verminderte LDL-Oxidation zurückzuführen?	Rotwein (RW) entalkoholisierter Rotwein (DRW) Weißwein (WW)	RW: 375 ml Polyphenolgehalt: 1200 mg/L WW: 375 ml Polyphenolgehalt: 345 mg/L DRW: 375 ml Polyphenolgehalt: 905 mg/L	Latin square Design, jede Testsubstanz täglich einmal über 14 Tage, jeweils eine Woche Auswaschphase.	18 männliche gesunde Probanden, Raucher, zwischen 25-71 Jahren, mittleres Alter 46 Jahre, keine Dauermedikation, leichter bis moderater Alkoholkonsum	24- Stunden-Sammelurin und venöse Blutentnahme vor und nach jeder Testphase. Messung der F2-Isoprostan-Konzentration mittels Gas-chromatographie-massen-spektrometrie. Gamma-GT fungiert als Marker für Alkoholkonsum. 4-O- Methylgallussäure fungiert als Marker für Polyphenolabsorption.	--Abfall der F2-Isoprostan-Konzentration (bei DRW) lässt eine verminderte LDL-Oxidation vermuten. --Keine verminderte LDL- Oxidation nach Konsum von RW oder WW. --Konzentrationserhöhung der 4-O-Methylgallussäure im Urin nach RW, DRW, nicht nach WW zeigt Polyphenolaufnahme. Keine Veränderung von Vitamin C, Alpha- oder Gammatocopherol kardioprotektive Effekt des Weinkonsums wahrscheinlich nicht durch verminderte LDL-Oxidation



**Carbonneau et al 1997: „Supplementation with wine phenolic compounds increases the antioxidant capacity of plasma and vitamin E of low-density lipoprotein without changing the lipoprotein Cu(2+)-oxidizability: possible explanation by phenolic location.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Kann die Einnahme von Polyphenolen in Kapselform die Plasma-LDL-Oxidation verhindern und so der Entstehung von Arteriosklerose entgegenwirken?	Kapsel mit Rotwein-Polyphenolen	Kapseln mit 1,98 g RWPC Trockenpulver Eine Kapsel enthält 222 mg Catechine + Proanthocyanine, vergleichbar mit dem Polyphenolgehalt eines Liters Rotwein	6 Kapseln täglich zu je 0,33 g über 2 Wochen	20 männliche gesunde Probanden, Nichtraucher, moderater Alkoholkonsum. Zwischen 20- 45 Jahre	Venöse Blutentnahme an Tag 0 und Tag 14. Tag -10 bis -1: keine Vitamin C und E Einnahme, kein Konsum von Alkohol, Wein, Fruchtsäfte, Kaffee, Tee, Cola. Tag 0-13: 6 Kapseln/d Ex vivo: Messung der oxidativen Kapazität von LDL nach Ultrazentrifugation und Dialyse der Lipoproteinfraktion	-unveränderte biochemische Eigenschaften von Plasma und HDL an Tag 0 und 14. -in LDL: erhöhter Vitamin E Gehalt (um 17,5%), dennoch kein erhöhter antioxidativer Schutz -im Plasma erhöhte antioxidative Fähigkeit. Interaktionen von Polyphenolen und LDL- Protein wird auf der Proteinoberfläche vermutet.

**Cerdá et al 2004: „The potent in vitro antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Das in vitro wirksamste Antioxidans aus Granatapfelsaft ist das Ellagitannin Punicalagin. Wie ist seine Bioverfügbarkeit in vivo?	Granatapfelsaft aus frischer Frucht 1l/d in fünf Einzeldosen	5,58 g/l Polyphenole, inklusive 4,37 g/l Punicalagin Isomere, 0,61 g/l freie Ellagsäure, 0,60 g/l Ellagsäureglycoside und 0,49 g/l Anthocyane (Delphinidin, Cyanidin, Pelargonidin-3-glucosid)	Tägliche Einnahme über 5 Tage	6 gesunde Probanden zwischen 25-28 Jahren Männer: 4 Frauen: 2 Nichtraucher.	<i>In vivo</i> Messung der Polyphenole und ihrer Metabolite durch HPLC-Massenspektrometrie. Venöse Blutentnahme zur Messung von u.a. LDL, HDL, VLDL, Triglyzeriden <i>In vitro</i> antioxidative Aktivität im Plasma (ABTS und FRAP Assays) und antioxidative Aktivität im Urin (ABTS und DPPH)	Kein Nachweis antioxidativer Kapazität der Testsubstanzen oder ihrer Metabolite. Weder in Plasma noch Urin Nachweis von Anthocyanen, Punicalagin oder Ellagsäure, aber Nachweis von drei anderen Metaboliten in Plasma und Urin (hierbei große interindividuelle Konzentrationschwankungen). Keine Konzentrationsänderung von HDL, LDL. Anstieg der LDL und $\beta$ -Lipoproteinkonzentration im Serum

**Chopra et al 2000: „Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Sind Nahrungs-ergänzungsmittel wie Rotweinkapseln oder Quercetin durch eine reduzierte Lipidperoxidation in vivo antioxidativ wirksam? Haben die Testsubstanzen Auswirkungen auf andere Antioxidantien im Blut?	Placebogetränk 1 Kapsel Rotweinextrakt (RWE) 1 Kapsel Quercetin	RWE: 1 g/d, äquivalent zu 375 ml Rotwein Quercetin 30 mg/ d	Placebo-kontrollierte randomisierte Studie 2 Wochen Placebogetränk, anschließend 2 Wochen entweder RWE (n=11) oder Quercetin (n=10), jeweils zusätzlich zum Placebogetränk Anschließend Auswaschphase von 5 Wochen.	22 gesunde männliche Probanden zwischen 33-56 Jahren, mittleres Alter 46 Jahre. Nichtraucher. Alkoholkonsum: regelmäßig (8), gelegentlich (6), kein Konsum (6). Blutbild und Transaminasen im Referenzbereich. Studienabbruch 1 (vgl. Anhang 2).	Venöse Blutentnahme in Woche 0, nach Placebo in Woche 2, nach der Testsubstanz in Woche 4, nach der Auswaschphase in Woche 9. Bestimmung des Lipidprofils im Serum, sowie Vitamine A, C, E und Carotinoide.	Quercetin und Rotweinextrakt hemmen die LDL-Oxidation in vivo und haben somit antioxidative Eigenschaften. Sie haben jedoch keinen Einfluss auf andere antioxidativ wirksame Substanzen (Carotinoide, Retinol, Vitamin C, Vitamin E).

**Chou et al. 2001: „Effect of ingestion of purple grape juice on endothelial function in patients with coronary heart disease.“**

<b>Fragestellung</b>	<b>Substanz und Darreichungsform</b>	<b>Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt</b>	<b>Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme</b>	<b>Information über die Probanden: Vorerkrankungen, Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.</b>	<b>Methode</b>	<b>Ergebnis</b>
Ist die Verbesserung der Endothelfunktion (messbar durch die flussvermittelte Vasodilatation) auf Traubensaft allein zurückzuführen oder auf eine Kombination mit Vitamin E?	Traubensaft in zwei verschiedenen Dosierungen, Vitamin E	Keine Angaben über Polyphenolgehalt	Einfach verblindete, randomisierte Kontrollstudie Tägliche Einnahme über 56 Tage  <u>Versuchsgruppe a)</u> n=11 erhielt 8ml/kg KG Traubensaft 2x/d für zwei Wochen (Hochdosisgruppe)  <u>Versuchsgruppe b)</u> n=11 erhielt 4ml/kg KG Traubensaft 1x/d (Niedrigdosisgruppe) -Nach 28 Tage zusätzlich Vitamin E (400 IU) in jeder Testgruppe	22 Probanden zwischen 36- 56 Jahren Männer: 18 Frauen: 4 mittleres Alter 64 Koronar-angiographisch gesicherte Herzerkrankung). Probanden mit unterschiedlicher Dauermedikation. Keinen Alkohol, Tee, kein Obst oder Vitamintabletten ab vier Wochen vor Versuchsbeginn.	Messung der flussvermittelten Vasodilatation (FMD) der A. brachialis mittels Ultraschall. Venöse Blutentnahme zur Messung von Lipid-, Insulin- und Blutzuckerspiegel	Traubensaft erhöht die flussvermittelte Vasodilatation dosisunabhängig nach 4 Wochen. FMD vor Testsubstanz: 1,3 (1,2 vs. 1,3) nach 4 Wochen: 2,9 (+2,0 vs. +2,0), plus Vitamin E: keine signifikante Änderung (-0,3). Traubensaft hatte keine negativen Auswirkungen auf den Lipid-, Glukose-oder Insulinstoffwechsel

**Chrubasik et al. 2008: „An observational study and quantification of the actives in a supplement with Sambucus nigra and Asparagus officinalis used for weight reduction.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie sicher und effektiv ist eine hypokalorische Diät, basierend auf Nahrungsergänzungsmitteln mit Holunderbeeren und Spargel und wie gut eignet sie sich als Erstmaßnahme zur Lebensstiländerung?	Holunderbeerensaft (Sambucus nigra) und Spargel (Asparagus officinalis): Saft aus Holunderblüten, Tabletten aus Blütenpulver und Blütenextrakt, Tabletten mit Spargelpulver	<u>Holunderbeeren pro Tag:</u> 1 mg Anthocyanine, 370 mg Flavonolglucoside, 150 mg Hydroxyzimtsäure <u>Spargel pro Tag:</u> 19 mg Saponinen	Beobachtungsstudie Tägliche Einnahme von Flohsamen (200 mg) in 1,5 l Holundersaft-konzentrat über 2 Wochen Tag 5-12: Malzeiten ersetzt durch 200 ml Saft und 3 Tabletten à 225 mg Beerenpulver plus 600 mg Blütenextrakt sowie 9 Tabletten Spargelpulver à 2,7 g (entspricht 40,5 g getrocknetem Spargel)	Initial 90 Probanden mit BMI 25-35, ausgeschlossen Schwangere und Personen mit schweren Vorerkrankungen. Mittleres Alter 54 Jahre +/- 11  28 (35%) mit kardiovaskulärer, 11 (14%) mit rheumatisch-arthritischer, 5 (6%) mit endokrinologischer und 4 mit fettsenkender Medikation.  80 Probanden beendeten die Studie 10 Studienabbrecher (siehe 2. Tabelle)	Vor Studienbeginn und Tag 13-15: Befragung der Lebensqualität anhand 10-Punkte-Beurteilungsskala Tag 1-4 und Tag 9-15: 9x RR- Messung/d	Der BMI sank von durchschnittlich 29.9(+/-5,2) auf 28.9(+/-5,0). Der systolische Blutdruck sank von 129,1 mmHg (+/-12,3) auf 121,8 (+/-11,9), Der diastolische Blutdruck sank von 80,1 mmHg (+/-8,4) auf 77,2 (+/-8,8). Die Herzfrequenz blieb unverändert. Anstieg der subj. Lebensqualität von 7,2 Punkte (+/-2,4) auf 8,0 (+/-2,1).

Crews et al 2005: „A double-blinded, placebo-controlled, randomized trial of the neuropsychologic efficacy of cranberry juice in a sample of cognitively intact older adults: pilot study findings.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Fördert Cranberrysaft die Neurokognition von kognitiv gesunden, älteren Erwachsenen?	1 Liter eines Getränks mit 27% handelsüblichem Cranberrysaft CJ oder ein Placebogetränk	Placebogetränk und handelsüblicher Cranberrysaft (Oceans Spray Cranberries Inc., Lakeville, Massachusetts), keine näheren Angaben zum Polyphenolgehalt	Doppelblinde, placebokontrollierte randomisierte Studie 6 Wochen	50 Probanden ab 60 Jahren, ohne dementielle Vorerkrankung oder signifikante neurokognitiven Einschränkungen  Eine Testgruppe (n=25) erhielt ein Testgetränk mit CJ Eine Testgruppe (n=25) erhielt ein Placebogetränk. Probanden führten ein Versuchstagebuch bezüglich der Merkfähigkeit.	Neuropsychologische Tests vor sowie 6 Wochen nach der Versuchsdurchführung. (Selektiver Erinnerungstest, Wechsler Gedächtnis Test Stufe III, Stroop Farb- und Wort-Test, Wechsler Erwachsenen Intelligenztest).	Kein signifikanter Unterschied in den standardisierten Tests in beiden Versuchsgruppen vor und 6 Wochen nach Versuchsdurchführung. Nicht signifikante, subjektiv erhöhte Merkfähigkeit bei 37,5% der Probanden der Cranberrysaft-Gruppe (37,5%) verglichen mit 4 Probanden der Placebogruppe (17,4%).

**Di Martino et al 2006: „Reduction of Escherichia coli adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Kann die Einnahme von Cranberrysaft die adhäsiven Eigenschaften von E. coli Bakterien in vitro reduzieren?	750 ml/d einer der vier Testsubstanzen: (1) 250 ml Placebogetränk und 500 ml Mineralwasser, (2) 750 ml Placebogetränk (3) 250 ml Cranberrysaft und 500 ml Mineralwasser (4) 750 ml Cranberrysaft	<u>Cranberrysaft:</u> Polyphenole 179mg: Anthocyane 9,3mg, Proanthocyane 40mg, gefiltertes Wasser, Cranberrysaft-konzentrat (27%), Aspartam, Ascorbinsäure, Fructose 1,1g/250ml. <u>Placebogetränk:</u> Polyphenole 161mg: Anthocyane 42mg, keine Proanthocyane, Fructose 1,4g/250ml	Doppeltblinde randomisierte Placebo-kontrollierte Crossover Studie 4 Einzeldosen, Auswaschphase jeweils mindestens 6 Tage	20 gesunde Probanden zwischen 20-25 Jahren. Ausschlusskriterien: Schwangerschaft, antibiotische Therapie bis 2 Wochen vor Versuchsbeginn. Männer: 10 Frauen: 10	In vitro Testung von Morgenurin mit 6 verschiedenen uropathogenen E. coli Stämmen auf T24-Zell-Adhäsion	Cranberrysaft-konsum reduziert die Bakterienadhäsion an T24-Zellen (=Urothelzellen) verglichen mit Placebo. Cranberrysaft zeigt antiadhäsive Aktivität gegenüber uropathogenen E. coli (UPEC) Stämme im Urin verglichen mit Placebo.

Duthie et al. 2005: „Increased salicylate concentrations in urine of human volunteers after consumption of cranberry juice.

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Sind nach regelmäßigem Konsum von Cranberrysaft erhöhte Salizylat-konzentrationen im Urin messbar?	Getränk zu je 250 ml Cranberrysaft (Moosbeerensaft) oder 250 ml Placebogetränk	Tagesdosis 750 ml (in 3 Einzeldosen) Gesamt-Salizylat-Konzentration des Cranberrysafts: 7,04 mg/l. Kein Salizylatgehalt im Placebogetränk.	Placebo-kontrollierte, doppelblinde Kontrollstudie. Tägliche Einnahme der Testsubstanz über 14 Tage	22 gesunde weibliche Probanden zwischen 26-30 Jahren. Nichtraucher 2 Versuchsgruppen (n= je 11). ähnliche Größe, Gewicht, Alter der Probanden.	Wöchentliche Bestimmung der Salizylsäure und ihres Metaboliten Salizylursäure im Urin anhand elektrochemischer Detektion via Hochleistungs-flüssigkeits-chromatographie (HPCL). Wöchentliche Bestimmung der Salizylsäure im Plasma.	Nach einer Woche messbarer Anstieg der Salizylsäure- und Salizylursäure Konzentrationen im Urin. Nach 2 Wochen signifikanter Anstieg der Salizylat-konzentration im Plasma.



Ellinger et al 2008: „A Bolus ingestion but not regular consumption of native or dealcoholized red wine modulates selected immunological functions of leukocytes in healthy volunteers.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Bewirkt der Konsum von Rotwein in normaler oder entalkoholisierter Form bei gesunden Probanden ex vivo immunologische Veränderungen hinsichtlich der Apoptose, Phagozytose, Granulozyten- oder Monozytenzahl?	Rotwein (RW): 200 ml entalkoholisierter Rotwein (DRW): 175 ml  Wasser (W): 200 ml.	<u>1 Dosis RW:</u> Flavonoide: 26,5 mg Catechin, 14,4 mg Epicatechin, 8,5 mg Malvidin, 1,0 mg Peonidin Gesamtmenge der Flavonoide 293 mg <u>1 Dosis DRW:</u> Flavonoide: 10,8 mg Catechin, 8,4 mg Epicatechin, 4,7 mg Malvidin, 0,5 mg Peonidin Gesamtmenge der Flavonoide 272 mg	randomisierte Kontrollstudie A) Einzeldosis B) 6 Wochen Einnahme 1x/d	A) 27 bzw. B) 78 gesunde Probanden zwischen 20-35 Jahren, Nichtraucher. Männer: 53 Frauen: 25 A) Einzeldosis: RW (n= 9): 200 ml DRW (n= 9): 175 ml Wasser (n= 9): 200 ml B) über 6 Wochen: RW (n= 27): 200 ml/d DRW (n=26): 175 ml/d. Kontrollgruppe (n= 25): keine Testsubstanz	Venöse Blutentnahme vor, 60 und 90 Minuten und 6 Wochen nach Einnahme zur Bestimmung von T-Zell-Apoptose, Phagozytose, Erhöhung der Neutrophilen und Monozyten.	Weniger Apoptose in DRW und W, nicht in RW. Nicht signifikanter Abfall der Granulozyten nur bei RW. Anstieg der Monozyten durch Einmalgabe von DRW.  Keine immunologischen Veränderungen durch längeren RW- oder DRW-Konsum. Fazit: Andere Mechanismen erklären möglicherweise die protektiven Effekte des Rotweinkonsums bei kardiovaskulären Erkrankungen.

Erlund et al 2008: „A Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Hat der Konsum polyphenolreicher Beeren einen Einfluss auf die Hämostase, den Lipidstoffwechsel und den arteriellen Blutdruck?	<p><u>Verumgruppe:</u> 100 g Heidelbeeren, Nektar mit 50 g Preiselbeeren pro Tag, alternierend mit 100 g Erdbeer- oder Johannisbeer-konfitüre (mit 80% Johannisbeeren) und 0,7 l Apfelbeeren- oder Himbeersaft</p> <p><u>Kontrollgruppe:</u> Eines der vier folgenden Testsubstanzen: 2 l Zuckerwasser, 100 mg süßer Porridge, 100 g Milchreis oder 40 g Marmeladen-süßungsmittel</p>	Gesamt-polyphenolgehalt: 837 mg, davon Anthocyane: 515 mg.	Einfach verblindete, randomisierte placebokontrollierte Studie 8 Wochen Tägliche Einnahme auf 2 Portionen/d.	72 Probanden mit kardiovaskulären Risikofaktoren (mindestens 1 Kriterium: leichte arterielle Hypertonie, erhöhte Nüchtern-blutzuckerwerte, erhöhte Cholesterin- oder Triglyzeridwerte oder erniedrigte HDL-Werte), mittleres Alter 57 Jahre. Keine Dauermedikation. Männer: 25 Frauen: 46 Studienausschluss 1x, siehe Anhang 2	Venöse Blutentnahme zur Bestimmung der Thrombozyten-funktion, vWF-Aktivität; D-Dimere, Prothrombin u.a. mittels ELISA. Vitamin C, Plasma-Quercetin und andere Polyphenole mittels HPLC. 24-Stunden-sammelurin vor Versuchsbeginn und am letzten Tag der Versuchs-durchführung.	Anstieg der Polyphenol- und Vitamin C-Konzentration zeigt eine gute Compliance. (Haupt-Vit. C-Quelle: Johannisbeeren). Verumgruppe: -leichter Abfall des systolischen Blutdrucks -leichter Anstieg des HDL-Cholesterins (gleichbleibende LDL- und Triglyzeridwerte), -verminderte Thrombozyten-funktion bei unbeeinflusster Koagulation, Fibrinolyse und Plättchenaktivierung

Esmailzadeh et al. 2004: „Concentrated pomegranate juice improves lipid profiles in diabetic patients with hyperlipidemia.“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Inwiefern beeinflusst die Aufnahme von konzentriertem Granatapfelsaft den Lipidstoffwechsel bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2?	Konzentrierter Granatapfelsaft 40 g/d	Gesamtpolyphenolgehalt: 875 mg / 100g, d.h. tägliche Aufnahme von 350 mg/d	Experimentelle Studie ohne KOntrolgruppe 8 Wochen Aufnahme 1x/d	26 Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 und Hyperlipidämie. Mittleres Alter 52 Jahre. Männer: 10 (8) Frauen: 16 (14). 22 beendeten die Studie. Ausschluss von 4 Probanden aufgrund Noncompliance.	Venöse Blutentnahme vor Versuchsbeginn und Woche 8. Ernährungstagebuch (insbesondere flavonoidreiche Lebensmittel), Notizen alle 10 Tage. Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test zur statistischen Auswertung	-Reduktion des Gesamtcholesterins im Serum - keine Änderung der Triglyzerid- und HDL-Konzentration im Serum

**Farkas et al. 2007: „Pomegranate juice does not impair clearance of oral or intravenous midazolam, a probe for cytochrome P450-3A activity: comparison with grapefruit juice.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen , ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche Auswirkungen haben Granatapfel- oder Grapefruitsaft auf die CYP3A4 Aktivität in vitro und in vivo bei gesunden Probanden, bei gleichzeitiger Einnahme mit Midazolam?	<p>1. Wasser und Midazolam i.v.  2. Wasser und Midazolam oral  3. Granatapfelsaft und Midazolam i.v.  4. Granatapfelsaft und Midazolam oral  5. Grapefruitsaft und Midazolam oral</p> <p>Dosierungen:  Säfte je 8 Unzen (= 0,23 l)  Midazolam i.v. = 2 mg  Midazolam oral = 6 mg  (hepatische und intestinale CYP3A4 Aktivität)</p>	<p>Handelsüblicher Grapefruitsaft (Oceans Spray, Inc., Lakeville, Massachusetts), keine näheren Angaben zum Polyphenolgehalt  Granatapfelsaft aus dem Handel (PomWonderful, Los Angeles, Calif), keine näheren Angaben zum Polyphenolgehalt</p>	<p>Randomisierte Cross-over-Studie, 5 verschiedene Testsubstanzen, Auswaschphase jeweils 1 Woche  Einnahme der Flüssigkeit am Vorabend und am Morgen des Studientages (7:00 Uhr).  Midazolam-Einmalgabe eine Stunde nach der zweiten Flüssigkeitsaufnahme (8:00 Uhr)</p>	<p>15 gesunde männliche Probanden, Nichtraucher, keine Dauermedikation. mittleres Alter 35 Jahre.  Jeder Proband durchläuft alle 5 Studienarme.  Studienabbruch in 2 Fällen (einmal aus administrativen Gründen, einmal aufgrund nicht verwendbarer Daten in einem Studienarm)</p>	<p>Venöse Blutentnahme 0,5, 1, 1,5, 2,3,4,5,6, 8,10 und 12 Stunden nach Midazolam.  Midazolam-Plasma-spiegel mittel HPLC.</p>	<p><u>In vitro</u>: CYP3A4-Hemmung sowohl bei Grapefruit- als auch bei Granatapfelsaft  <u>In vivo</u>: Grapefruitsaft: erhöhte Midazolam-Plasmaspiegel nach oraler Gabe  Granatapfelsaft: Keine Änderung der Midazolamclearance (i.v. &amp; oral)</p>

Freedman et al. 2001: „Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release.“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen , ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche Auswirkungen haben aus Grapefruitsaft isolierte Flavonoide auf die Thrombozytenfunktion und deren Produktion von Stickstoffmonoxid (NO)?	Grapefruitsaft: 7 ml/kg Körpergewicht/ Tag	Angegebene Inhaltsstoffe: Anthocyanen, Flavonolen, Proanthocyanen und Zimtsäure. Keine Angaben über den Polyphenolgehalt.	Nicht verblindete Studie ohne Kontrollgruppe 14 Tage	20 gesunde Probanden, mittleres Alter 30 Jahre. Ausschlusskriterium: Vegetarier. Männer: 12 Frauen 8 Während der Studierendurchführung kein Alkohol, Tee, Kaffee, Obst, Vitaminprodukte, Knoblauch. Ernährungstagebuch. Keine Information über unerwünschte Nebenwirkungen	NO- Messung: NO-selektive Mikroelektrode. Superoxid-Messung: Lumi-Aggregometer. Serumvitaminspiegel und Flavonoidspiegel mittels HPCL.	Grapefruitsaft hemmt die Thrombozytenaggregation. Grapefruitsaft steigert die thrombozyten-vermittelte NO-Produktion und verringert die Produktion von Superoxiden. Acorbinsäurespiegel und Uratsäurespiegel blieben konstant. Es zeigt sich ein leichter Anstieg von Alpha- und Gamma-Tocopherol nach 14 Tagen

Gettman et al. 2005: „Effect of cranberry juice consumption on urinary stone risk factors.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Hat die Einnahme von Cranberrysaft, verglichen mit der Einnahme von Wasser, einen Einfluss auf die Nierensteinbildung?	Cranberrysaft, deionisiertes Wasser	1 Liter handelsüblicher Cranberrysaft der Marke Ocean Spray Ltd. Lakeville, MA, USA bzw. Wasser Keine Angabe über den Polyphenolgehalt. Hoher Citratgehalt, niedriger Kaliumgehalt, Calciumgehalt 152mg/d, Ascorbinsäure 426mg/l, Oxalat 15mg/l, Chinasäure 21mg/l.	Nicht verblindete Kontrollstudie in 2 Phasen 5 Wochen: Interventionsstudie 1 Woche, anschließend Auswaschphase 3 Wochen. Im Anschluss Phase 2 mit der anderen Testsubstanz Tägliche Aufnahme über 7 Tage	24 Probanden, 12 davon gesund, 12 mit einer Oxalat-Stein-Bildung in der Vorgeschichte, mittleres Alter 35 Frauen: 12 Männer: 12 Kein Harnwegsinfekt, keine Lebererkrankungen, keine chronischen Erkrankungen, insbesondere kein Diabetes mellitus, keine Schwangerschaft.	An den letzten beiden Studientagen jeder Phase eine venöse Blutentnahme und 24-Stunden-Sammelurin	CJ erhöht Ca, Oxalat i. Urin - > 18% mehr Calciumoxalatsteine. -reduziert pH um 0,3 Die Gegenspieler einer Steinbildung Citrat und Magnesium ändern sich nicht bzw. steigen leicht an. CJ führt zur Erniedrigung der Harnsäure (um 102 mg/d) - und Phosphatspiegel i. Urin - > 23% weniger Brushitsteine. Ähnliche Ergebnisse in beiden Versuchsgruppen. <u>Fazit der Autoren:</u> Wahrscheinlich keine relevante Beeinflussung der Steinbildung durch Cranberrysaft

## Goldberg et al. 1996: „Wine: Does the color count?“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Modulieren in Traubensäften und Rotwein enthaltene Polyphenole das Plasmalipidprofil und die Konzentration der Triglyzeride oder HDL- Cholesterin oder ist der Alkoholgehalt dafür verantwortlich?	Rotwein, Weißwein, zwei Arten von Traubensäften mit unterschiedlichem Polyphenolgehalt	<u>WW (375 ml)</u> : <0.01 mg/l Trans-Resveratrol <u>Rotwein (375 ml)</u> : 4 mg/l Trans-Resveratrol Alkoholgehalt je 12% <u>Handelsüblicher Traubensaft (500 ml)</u> : Konzentration nicht genannt <u>Traubensaft mit Erhöhung der Trans-Resveratrolkonzentration (500 ml)</u> 4 mg/l.	Nicht verblindete Studie ohne Kontrollgruppe in 4 Phasen in 6 Wochen, tägliche Einnahme der Testsubstanz über 4 Wochen, Auswaschphase 2 Wochen	24 gesunde männliche Probanden zwischen 26- 45 Jahren. WW: n= 22 RW: n= 23 Keine Dauermedikation, kein zusätzlicher Alkoholkonsum	Venöse Blutentnahme vor Versuchsbeginn und nach dem letzten Versuchstag Messung von HDL-, LDL- Cholesterin, Triglyzeride und Apolipoprotein A-I, A-II im Plasma mittels enzymatischer und immuno-metrischer Verfahren	<u>Anstieg nach RW und WW</u> : HDL, Apo A-I (11% bzw. 7%), Apo A/Apo B Ratio. Keine Änderung von LDL; HDL/LDL Ratio, Apo B. <u>Anstieg nur nach RW</u> : Triglyzeride (26%) und Gesamtcholesterin (6 %). kein Effekt auf die Fettstoffwechsel-Parameter durch die Traubensäfte, außer auf Apo A-II (Anstieg). Fazit der Autoren: Der Alkohol- und nicht der Polyphenolgehalt moduliert Lipidprofil. RW hat geringere antiatherogene Eigenschaften als WW.

**Gorelik et al. 2008: „A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Haben Rotwein-Polyphenole Einfluss auf die in vivo Absorption von Malondialdehyd und andere Produkte der postprandial stattfindenden zytotoxischen Lipidperoxidation?	Drei Mahlzeiten an drei unterschiedlichen Tagen Je 250 g Truthahnfleisch (3,23 µmol MDA) plus A) mit Wasser als Soße (Kontrollgruppe) B) in unerhitzter Rotweinsoße plus 1 Glas Rotwein (200ml) als Getränk C) in erhitzter Rotweinsoße plus 1 Glas Rotwein (200ml) als Getränk	A) keine Polyphenole B) 750 µmol Polyphenole, <u>nach</u> dem Kochen hinzugefügt, 1 Glas Rotwein (1380 µmol Polyphenole) C) 750 µmol Polyphenole, <u>vor</u> dem Kochen hinzugefügt, 1 Glas Rotwein (1380 µmol Polyphenole).	Randomisierte, kontrollierte Cross-over-Studie Auswaschphase mindestens 1 Woche	10 gesunde Probanden, Nichtraucher, mittleres Alter 32 Jahre Frauen: 6 Männer: 4 Ausschlusskriterium: Extremsportler, Raucher, metabolische Vorerkrankung, Alkohol-erkrankung.	Bestimmung von Malondialdehyd (MDA) und Kreatininwert mittels Urinprobe und venöser Blutentnahme zum Zeitpunkt 0 und 1,2,3,4,5,6 Stunden nach der Mahlzeit	A) Erhöhung der MDA- Spiegel von 50nM (+/-20) auf 160nM B) Erhöhung der MDA- Spiegel von 50nM (+/-20) auf 90nM C) Kein Nachweis einer MDA-Erhöhung <u>Fazit der Autoren:</u> Rotweinpolyphenole können den Fettstoffwechsel und damit kardiovaskuläre Risikofaktoren positiv beeinflussen



Gotteland et al. 2008: „Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Probiotika und Cranberrysaft hemmen <i>in vitro</i> das Wachstum von <i>Helicobacter pylori</i> (durch Bacteriocin bzw. durch den Anthocyangehalt). Das konnte <i>in vivo</i> an H.p. positiven Probanden bestätigt werden. Hat gleichzeitiger Konsum von Cranberrysaft und <i>Lactobacillus johnsonii</i> (La1) einen additiven oder synergistischen Effekt auf die Rate der H.p. - Eradikation bei H.p.-positiven Kindern?	Cranberrysaft, <i>Lactobacillus johnsonii</i> A) Cranberrysaft (CJ) und La1 B) Cranberrysaft und hitzegetötete La1 C) Placebosaft und La1 D) Placebosaft und hitzegetötete La1 (Kontrollgruppe)	Cranberrysaft oder Placebosaft: je 200 ml La1 enthaltendes Produkt: 80 ml La1: 10 <sup>7</sup> -7 koloniebildende Einheiten/ml.  Cranberrykonzentrat (4%).  Placebo mit 0,5 g/L Ascorbinsäure, 1,8 g/L Zitronensäure, 0,3 g/L Apfelsäure, 0,5 g/L Benzoesäure 0.5g/L Traubengeschmack	Multizentrische, randomisierte, doppelblinde Kontrollstudie 3 Wochen tägliche Einnahme	271 Kinder mit initial positivem 13C-Urea Atemtest	Erster 13C-Urea-Atemtest: Bei allen Probanden positiv Zweiter 13C-Urea Atemtest nach 3 Wochen täglicher Einnahme der Testsubstanz Dritter Atemtest nach weiteren 4 Wochen bei Probanden mit H.p. negativem Ergebnis nach Versuchsdurchführung.	H.p. Eradikation nach Konsum von A) CJ+La1: 22% B) CJ: 16% C) La1: 14,9% C) Kontrolle: 1,5% Sowohl La1 als auch Cranberrysaft helfen in der Behandlung H.p. positiver Probanden, ein synergistischer Effekt wurde dabei nicht beobachtet.

**Greenberg et al. 2005: „Consumption of sweetened dried cranberries versus unsweetened raisins for inhibition of uropathogenic Escherichia coli adhesion in human urine: a pilot study.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Können gesüßte, getrocknete Cranberries eine Adhäsion von E. coli Bakterien an das Epithel der ableitenden Harnwege im Vergleich zu Rosinen vermindern?	Rosinen und gesüßte getrocknete Cranberries, insgesamt zwei Portionen an unterschiedlichen Tagen, jeweils Einmalgabe	42,5 g Rosinen oder Cranberries	Pilotstudie Konsum von Rosinen an Tag 1, Konsum von Cranberries an Tag 7	Fünf weibliche Probanden mit positiver Urinkultur auf uropathogene E. coli, keine Angaben zu Alter, Vorerkrankungen o.ä. Auswaschphase mindestens 5 Tage	1.Urinprobe vor der Intervention; 2.Probe nach 2-5 Stunden nach Konsum von 42,5 g Rosinen; 3.Probe nach 5-7 Tagen, 4.Probe nach Konsum von 42,5g getrockneten Cranberries.  Bestimmung der E. coli Adhäsion mittels eines Mannose-resistenten Hämagglutination Assays mit humanen Erythrozyten (a1, Rh+)	Antiadhärente Aktivität in der Urinprobe a) nach Rosinen: keine b) nach getrockneten Cranberries: 50% vs. 2x 25% vs. 2x 0% c) in Kontrollgruppe: keine <u>Fazit der Autoren:</u> getrocknete Cranberries hemmen möglicherweise die Adhäsion von E. coli Bakterien an das Urothel, Rosinen hingegen nicht.

Greenlee et al. 2004: „Supplement use among cancer survivors in the Vitamins and Lifestyle (VITAL) study cohort.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge, Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche spezifischen Nahrungsergänzungsmittel werden von Patienten mit einer Krebsdiagnose in der Vorgeschichte im Vergleich zu gesunden Probanden eingenommen?	Vitamine, Mineralien, pflanzliche Präparate in Kapselform <u>10 spezifische Vitamine</u> (Vitamin A, C, D, E, Betacaroten, Thiamin, Niacin, Vitamin B6, Folsäure, Vitamin B12). <u>6 spezifische Mineralien</u> (Calcium, Eisen, Magnesium, Zink, Selen, Chrom). <u>20 spezifische pflanzliche Präparate</u> (Acidophilus-Kapseln, Coenzym Q10, Cranberrykapseln, Fischöl, Ginseng Proanthocyan, Glucosamin, Chondroitin, Lutein, Lycopren, Melatonin, Methylsulfonylmethan (MSM), Soja, Isoflavone, Johanniskraut. <u>Bei Männern zusätzlich:</u> Dehydroepiandrosteron (DHEA), Sägepalme. <u>Bei Frauen zusätzlich:</u> Cimicifuga racemosa, Dong Quai.	Angaben beim Hersteller	Querschnitts-kohortenstudie VITAL Studie: Vitamin und Lifestyle Studie	Interventionsstudie mit 75 288 Probanden: 10 857 Probanden mit Neoplasie in der Vorgeschichte und 64 226 Probanden ohne onkologische Vorerkrankung in der Kontrollgruppe Zwischen 50-76 Jahren Frauen: 39 642 (52,7%) Männer 35 441 (47,2%)	24seitiger detaillierter Fragebogen über die Einnahme von Vitaminen, Mineralien und pflanzlichen Präparaten in den letzten 10 Jahren Einmalig venöse Blutentnahme und Urinprobe	Probanden der Interventionsgruppe tendierten dazu, Vitamine in höheren Dosierungen einzunehmen als Probanden der Kontrollgruppe. Die am meisten konsumierten Nahrungsergänzungsmittel (=Multivitamin, Vit. E, Calcium) wurden von beiden Gruppen gleichermaßen konsumiert. Nur Brustkrebs-Patientinnen konsumierten mehr Calcium und Vitamin E. Signifikant erhöhte Einnahme von Cranberrykapseln bei Urothelkarzinom in der Vorgeschichte, Zink bei Ovarialkarzinom, Soja bei Prostatakarzinom, Melatonin bei Zervixkarzinom, Vitamin D bei Schilddrüsenkarzinom, Vitamin A bei Kolonkarzinom.

Greenrod et al. 2005: „Moderate acute intake of de-alcoholized red wine, but not alcohol, is protective against radiation-induced DNA damage ex vivo—results of a comparative in vivo intervention study in younger men.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Schützen die alkoholischen oder die nicht alkoholischen Bestandteile des Weins die Zellen vor oxidativem Stress und Genomschäden?	Rotwein (RW), entalkoholisierter Rotwein (DRW), Ethanol	Polyphenolkonzentration: RW 1200mg/l DRW 1100mg/l davon Anthocyan-konzentration: RW: 121mg/l DRW: 102mg/l	Cross-over-Interventionsstudie 3 Wochen Jeweils in einer Einzeldosis von 300 ml an verschiedenen Tagen, 48h vorher polyphenolfreie Ernährung. Auswaschphase 1 Woche nach jedem Getränk	6 männliche Probanden zwischen 21-26 Jahren Ausschlusskriterium: hoher Alkohol- und Nikotinkonsum.	Venöse Blutentnahme 0,5; 1, 2 Stunden nach Einnahme der Testsubstanz. Messung der Plasmacatechinkonzentration. Bestrahlung der Blutprobe mit 1,5 G Gammastrahlen und damit verursachen eines Genomschadens durch einen CBMN-Assay (Cytokinesis-block micronucleus assay)	Keine signifikante Änderung der Plasmacatechinkonzentration. Signifikanter Anstieg der NDI (Kernteilungsindex nach RW). Signifikanter Abfall des Kernteilungsindex nach DRW. Signifikante Reduktion des strahleninduzierten DNA-Schadens durch DRW. Ethanol nicht protektiv in dieser ex vivo Studie. - nach Ethanol erhöhter Genomschaden - nach RW kein DNA-Schaden im Vergleich zu Ethanol.

Heber et al. 2007: „Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Die Hauptvertreter der Antioxidantien in Granatäpfel sind Ellagitannine. Wie sicher und antioxidativ wirksam sind ellagitannin-haltige Nahrungs-ergänzungsmittel bei adipösen Probanden?	Nahrungs-ergänzungsmittel mit Ellagitannin aus Granatapfel in Kapselform	<u>Studie 1:</u> 1 Kapsel täglich bzw Placebo mit 1420 mg Extrakt (mit 870 mg GAE) oder Placebo (0g GAEs)  <u>Studie 2:</u> 2 Kapseln täglich mit 1000 mg Extrakt (610 mg GEAs)	Zwei Placebo-kontrollierte, verblindete klinische Pilotstudien 3 Studientage	<u>Studie 1 („San Diego Site“):</u> 64 übergewichtige Probanden zwischen 35-65 Jahren <u>Studie 2 („Denver Site“):</u> 24 übergewichtige Probanden Frauen: 18 Männer: 4 7 Probanden erhielten Placebo	An jedem der drei Termine Serumparameter, klinische Chemie und Urinproben. Messung der antioxidativen Aktivität mittels Thiobarbitursäurezahl vor und nach der Kapsel-einnahme	Nahrungs-ergänzungsmittel mit Elagitannin erweisen sich in diesen Studien am Menschen als sicher. <u>Studie 1:</u> 2 von 27 berichten von geringen UAWs <u>Studie 2:</u> 5 von 28 berichten von geringen UAWs

Herrera-Arellano et al. 2007: „Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of Hibiscus sabdariffa on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie schneidet ein pflanzliches medizinisches Produkt aus H. sabdariffa-Extrakt im Vergleich zu Lisinopril hinsichtlich Wirksamkeit, Verträglichkeit, Auswirkung auf Serumelektrolyte und Hemmung des Angiotensin-converting-Enzyms bei Hochdruckpatienten ab?	Hibiscus sabdariffa-Extrakt in Wasser gelöst Lisinopril, in Wasser gelöst	<u>Experimentalgruppe (EG):</u> 250 mg Anthocyane, gelöst in 250 ml Wasser 10 g Extrakt enthalten: 15 mg Delphinidin-3-Sambubiosid 7,8 mg Cyanidin-3-Sambubiosid <u>Kontrollgruppe (KG):</u> 10 mg Lisinopril mit künstlichem Farbstoff, gelöst in 250 ml Wasser	Randomisierte, Lisinopril-kontrollierte, doppelblinde Studie 4 Wochen, tägliche Einnahme	193 Probanden mit arterieller Hypertonie Stadium I- II zwischen 25-61 Jahren ohne Medikation 30 Tage vor Versuchsbeginn Experimentalgruppe: 100 (85) Kontrolle: 93 (83)	Venöse Blutentnahme vor Versuchsbeginn und nach Abschluss des Versuchs: kolorimetrische und photo-spektrometrische Bestimmung von Kreatinin, Harnstoff, Serumelektrolyte, Leberwerte. HPLC zur Bestimmung der ACE-Aktivität	<u>Anfangs-RR</u> EG: 146/97 mmHg, KG: 145/97 mmHg <u>RR nach 4 Wochen:</u> EG: 129/85 mmHg (11,6%) KG: 122/82 mmHg (15,7%) -Therapeutische Wirksamkeit 65% EG, 82% KG -Verträglichkeit (keine schweren unerwünschten Nebnewirkungen) 100% EG, 98% KG -Sicherheit (keine Anstiege Leber-/ Nierenwerte) je 100%. -ACE-Aktivitäts-Abfall 29% EG, 45% KG. Leichter CI-Anstieg, Na-Abfall in EG, KG

**Hozumi et al. 2006: „Beneficial effect of short term intake of red wine polyphenols on coronary microcirculation in patients with coronary artery disease.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Kann die koronare Mikrozirkulation durch die tägliche Einnahme von alkoholfreien Rotwein-polyphenolen verbessert werden?	Rotwein-Polyphenol-Pulver, gelöst in 250 ml Wasser	Rotwein-Polyphenole (1,4 g/kg KG)	Erste Gruppe: 10 männliche Probanden mit angiographisch gesicherter KHK, EF > 40%. Zweite Gruppe: 10 jüngere Probanden ohne KHK tägliche Einnahme über 14 Tage Alle Probanden: Nichtraucher, kein Alkoholkonsum, keine Vitamintabletten-einnahme, kein Myokardinfarkt,	20 männliche Probanden, Nichtraucher, kein Alkoholkonsum Experimentalgruppe: mittleres Alter 61 Jüngere Vergleichsgruppe: mittleres Alter 34 keine Kontrollgruppe	Messung der Koronarflussreserve des R. interventricularis anterior (RIVA) mittels Doppler-echokardiographie, vor Versuchsdurchführung, 14 Tage nach Einnahme jeweils in Ruhe und nach 0,14mg/kg/min Adenosin i.v.	Anstieg der Koronarflussreserve bei Maximalfluss in beiden Gruppen nach 14 Tagen KHK: 22% Gesunde: 12% Fazit der Autoren: Verbesserung der koronaren Mikrozirkulation bei KHK- Patienten und Gesunden

Imhof et al. 2008: „Drinking modulates monocyte migration in healthy subjects: a randomised intervention study of water, ethanol, red wine and beer with or without alcohol.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Besitzen alkoholische und nichtalkoholische Getränke einen Einfluss auf die Monozyten-Migration?	Rotwein RW (12,5% Alkoholgehalt), entalkoholisierter Rotwein DRW, Bier B (5,6%) Alkoholfreies Bier DB, Ethanol ET (12,5%), Wasser. Jeweils äquivalent zu 20 g/d Ethanol (Frauen) bzw. 30 g/d Ethanol (Männer)	Polyphenolgehalt: RW: 275mg/L DRW: 275 mg/L. Bier: 169 mg/L. Alkoholfreies Bier: 171 mg/L.	randomisierte Kontrollstudie 3 Wochen, Auswaschphase 1 Woche	49 gesunde Probanden zwischen 22-59 Jahren, Nichtraucher	Ex vivo Bestimmung der Monozyten-Migration mittels Boyden-Kammer	Reduktion der Protein-1-induzierten Monozyten-Migration um 58% nach ET, um 36% nach DRW. Keine signifikante Änderung für RW, B, DB- Reduktion der FMLP- (N-Formyl-Methionyl-Leucyl-phenylalanin) induzierte Migration um 41% bei ET und 36% bei DRW. Keine Verringerung der Adhäsionsmoleküls E-Selectin und des MCP-1 Rezeptor-Expression



Kiviniemi et al. 2007: „A moderate dose of red wine, but not de-alcoholized red wine increases coronary flow reserve.“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Verbessert ein moderater Rotweinkonsum die fraktionelle Koronarflussreserve CFR bei gesunden Probanden?	Rotwein RW, entalkoholisierter Rotwein DRW	Polyphenolgehalt RW: 1,96 g DRW: 1.22 g  Niedrigdosis (ND): 0,5 g/kg KG (4,0 dl)  Hochdosis (HD): 1,0 g/kg KG (8,1 dl)	Randomisierte, einfach verblindete Cross-over-Studie Einmalige Einnahme je einer der beiden Testsubstanzen an unterschiedlichen Versuchstagen Auswaschphase eine Woche	22 männliche gesunde Probanden, Nichtraucher, mittleres Alter 23	Messung der Koronarflussreserve des R. interventricularis anterior (RIVA) mittels Doppler- echokardiographie, vor Versuchs- durchführung und 30 Minuten nach Einnahme, jeweils in Ruhe und nach 0,14mg/kg/min Adenosin i.v. Venöse Blutentnahme vor und nach Versuch für Lipid- und Blutzuckerstatus. Messung der antioxidativen Kapazität im Plasma mittels farbmetrischem Assay	<u>CFR-Anstieg RW:</u> -ND: 3,8 auf 4,5 -HD 3,8 auf 4,0  <u>CFR-Anstieg DRW:</u> ND: 4,0 auf 4,3 (nicht signifikant) -HD: 4,0 auf 4,5 (nicht signifikant)  <u>Antioxidative Fähigkeit im Plasma</u> - RW: 27,5% Anstieg -DRW: 0,5% Anstieg Keine Assoziation zw. antioxidativer Fähigkeit und CFR nach Einnahme von Polyphenolen. <u>Fazit der Autoren:</u> bereits moderate Rotweinmengen erhöhen die CFR.

**Kontiokari et al. 2001: „Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and Lactobacillus GG drink for the prevention of urinary tract infections in women.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Können rezidivierende Harnwegsinfekte durch Cranberry-Preiselbeer-Saft oder durch ein Lactobacillus-haltiges Getränk vermieden werden?	Handelsüblicher Cranberry-Preiselbeer-Saft (Maija, Marli, Finnland) Handelsübliches Lactobacillus-haltiges Getränk (Gefilus, Valio, Finnland)	A) 50 ml Cranberry-Preiselbeer-Safts (CLJ): 7,5 g Cranberry-konzentrat, 1,7 g Preiselbeer-konzentrat keine näheren Angaben zum Polyphenolgehalt  B) 100 ml Lactobacillus-Getränks mit $4 \times 10^{10}$ koloniebildende Einheiten	Offene randomisierte, Kontrollstudie über 12 Monate A) Tägliche Einnahme von CLJ über 6 Monate (n=50) B) 100ml eines Lactobacillus-Getränks 5 Tage/Woche über ein Jahr (n=50) C) Keine Aufnahme einer Testsubstanz (n=50)	150 weibliche Probanden mit Harnwegsinfektion durch E. coli, mittleres Alter 30 Jahre	Urinstatus: bakterielles Wachstum > 10 koloniebildende Einheiten/ml aus Mittelstrahlurin	20% weniger Harnwegsinfekte in A) verglichen mit B) und C) B reduziert Harnwegsinfekt-Rezidiven nicht. Mindestens ein Harnwegsinfekt nach 6 Monaten A) 8 Fälle (16%) B) 19 Fälle (39%) C) 18 Fälle (36%) number needed to treat=5

Lavigne et al. 2007: „[Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> ) and urinary tract infections: study model and review of literature].“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Sind Cranberry-Kapsel zur Prävention eines bakteriellen Harnwegsinfekts im Vergleich zu Placebo wirksam?	Cranberry Kapseln oder Placebo: A) 3 Kapseln Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> ) (=108 mg) B) 3 Kapseln Placebo C) 1 Cranberry Kapsel (=36 mg) und 2 Kapseln Placebo	Keine Aussage über Polyphenol- oder Anthocyangehalt	Randomisierte doppelblinde Cross-over-Studie 3 Wochen: Jeweils Einmaleinnahme, anschließend 6 Tage Auswaschphase	8 gesunde weibliche Probanden zwischen 30-43 Jahren	In vitro Studie: HRBC- Assay (human red blood cell assay), humane T24-Epithelzell-Linie. In vivo Modellorganismus: <i>Caenorhabditis elegans</i> Assay: Testung der Fähigkeit der vier <i>E. coli</i> Stämme, <i>C. elegans</i> abzutöten	Dosisabhängiger Abfall der bakteriellen Adhäsion <i>in vitro</i> nach A) und C) Herabgesetzte <i>in vivo</i> Fähigkeit der uropathogenen <i>E. coli</i> Stämme (UPEC), <i>C. elegans</i> abzutöten nach A) und C)

**Matsuo et al. 2001: „Effect of red wine and ethanol on production of nitric oxide in healthy subjects.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche unmittelbaren Effekte haben Rotwein, Ethanol und Polyphenolen auf die in vivo Produktion von Stickstoffmonoxid?	Rotwein RW, Ethanol ET und ein polyphenolhaltiges Getränk mit gleichem Polyphenolgehalt wie Rotwein. Gleicher Alkoholgehalt in RW und ET	Keine Informationen über Konzentrationen, keine Mengenangabe.	Randomisierte verblindete Studie 3 Wochen Einmalgabe jeder Substanz (RW an Tag 1, ET an Tag 8, Polyphenolgetränk an Tag 15)	6 gesunde, männliche Probanden, zwischen 26-49 Jahren, mittleres Alter 36, darunter ein Raucher: Nikotinkarenz 24h vor und während der Versuchsdurchführung	Venöse Blutentnahme vor sowie 30,60,90,120 Minuten nach Einmalgabe, Messung von Herzfrequenz und Blutdruck, EKG. Detektion der NO-Produktion unter physiologischen Bedingungen durch Hinzufügen von Diamino-fluorescein DAF-2 (2mg/ml) und Messung mit Fluoreszenzspektrophotometer	<u>RW; ET; NO-</u> Anstieg, Hf-Anstieg, RR- Abfall. <u>Polyphenolgetränk:</u> Keine Änderung von NO, RR, Hf. Normales EKG in allen Testgruppen. <small>Einschränkende Bemerkung: Tendenzieller Anstieg der NO- Produktion bei Polyphenolen, aber keine Signifikanz. Kleine Subgruppe. NO wurde venös gemessen, nicht in Koronararterien. Anmerkung der Autoren: Erhöhte NO- Produktion durch Alkoholkonsum kann eine plausible Erklärung für das French Paradoxon sein.</small>

McHarg et al. 2003: „Influence of cranberry juice on the urinary risk factors for calcium oxalate kidney stone formation.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Hat Cranberrysaft einen protektiven Effekt auf die Bildung von renalen Calcium-Oxalat-Steinen?	Cranberrysaft CJ, Wasser:	CJ: 86g/l Oxalat, 300mg/l Ascorbinsäure A) 500ml CJ in 1500ml Leitungswasser B) 2000ml Leitungswasser	Randomisierte Crossover Studie 6 Wochen: 2 Wochen Testsubstanz A 1x/tgl, 2 Wochen Auswaschphase, 2 Wochen Testsubstanz B 1x/tgl Testgruppe 1 (n=10): A, B Testgruppe 2 (n=10): B, A	20 gesunde, männliche Probanden, mittleres Alter 25. Tagebuch über Ernährungsgewohnheiten.	Messung von pH, Elektrolyte mittels 24h- Urin an Tag 0 und 14	Senkung dreier Risikofaktoren für Harnwegsinfekte: Reduktion der renalen Oxalat- und Phosphat-Ausscheidung. Anstieg der Citrat-Ausscheidung. Bemerkung: pH-Anstieg in beiden Testgruppen (anders als in anderen Publikationen), die Autoren vermuten veränderte Essgewohnheiten. Diese waren im Vorfeld nicht klar vorgegeben.

**McMurdo et al. 2005: „Does ingestion of cranberry juice reduce symptomatic urinary tract infections in older people in hospital? A double-blind, placebo-controlled trial.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Kann der Konsum von Cranberrysaft die Inzidenz symptomatischer Harnwegsinfekte bei älteren, hospitalisierten Patienten herabsetzen?	Cranberrysaft CJ, Placebogetränk: jeweils 300 ml/d, verteilt auf zwei Einzeldosen (à 150ml)	CJ: Proanthocyan-konzentration 11,175 µg/g Trockengewicht Placebo ohne Proanthocyane	Randomisierte, placebo-kontrollierte, doppelblinde Studie Endpunkt: 35 Tage bzw. Auftreten eines Harnwegsinfektes	376 Probanden über 60 Jahre, mittleres Alter 81 Jahre <u>CJ- Gruppe (n=187):</u> Frauen: 122 Männer: 65 <u>Kontroll-Gruppe (n=189):</u> Frauen 133 Männer: 56 Ausschlusskriterien , u.a.: Medikation mit Warfarin, Alkoholkonsum, regelm. CJ-Konsum, antibiotische Therapie	Auftreten eines Harnwegsinfekts (positiver Uricult)	Es traten 21/376 Harnwegsinfekte auf (5,6%). CJ: 7, P: 14. 13 der 21 Infektionen waren mit E. coli. Signifikant weniger Infektionen mit E. coli (4 vs. 13) Bemerkung: Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren, da trotz großer Subgruppe niedrige Inzidenz von HWI.

**Mertens-Talcott et al. 2006: „Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (Punica granatum L.) polyphenols after ingestion of a standardizd extract in healthy human volunteers.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie hoch ist die Bioverfügbarkeit und wie sind die antioxidativen Effekte nach Konsum von Granatapfel-kapseln?	Granatapfel (Punica granatum) in Kapselform Standardisiertes Granatapfel-Extrakt (400 mg)	Einmalaufnahme von 2 Kapsel zu je 400 mg Granatapfelextrakt (entspricht 800 mg), davon 330,4 mg Punicalagin, 21,6 mg Ellagsäure.	Pilotstudie 1 Tag Auswaschphase über Nacht	13 gesunde, männliche und weibliche Probanden, mittleres Alter 37 Jahre	Venöse Blutentnahme bei Versuchsbeginn, nach 0,5 und 1,2,4,6,8,24 Stunden. HPLC-Massenspektrometrie ORAC Assay	Verschiedene Plasmametabolite der Ellagsäure wurden im Urin nachgewiesen. Kein Nachweis von Punicalagin. Erhöhung der antioxidativen Aktivität im Plasma (via ORAC Assay ermittelt) um 31% nach 0,5 h. Ellagsäure-Spitzenwerte im Plasma nach 1 h. IL-6 veränderte sich nicht signifikant.

Modun et al. 2008: „The increase in human plasma antioxidant capacity after red wine consumption is due to both plasma urate and wine polyphenols.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welche Rolle spielen Rotwein-polyphenole und welche Rolle spielt ein erhöhter Plasmaharnsäurespiegel hinsichtlich der plasmatischen antioxidativen Fähigkeiten?	Rotwein RW, entalkoholisierter Rotwein DRW, Polyphenolfreier Rotwein PSRW, Ethanol ET, Wasser	Keine Angaben	Randomisierte einfach verblindete Cross-over-Studie 5 Wochen Einmaldosis (3ml/kg Körpergewicht) von jeweils einem der 5 Getränke, Auswaschphase 1 Woche	9 gesunde, männliche Probanden zwischen 25-40 Jahren, Nichtraucher, Normolipidämie, kein Alkoholkonsum, keine Dauermedikation.	Venöse Blutentnahme zu Bestimmung der Plasma-konzentrationen von Ethanol, Catechin, Harnsäure am Versuchsbeginn und nach 30,60,90,120,180 Minuten. Messung der Plasmaoxidations-fähigkeit durch Messung der Eisenreduktion (FRAP, ferric reducing antioxidant power)	<u>Ethanol:</u> RW=PSRW=ET >RW. <u>Catechin:</u> RW=DRW>W; ET; PSRW. <u>Harnsäure:</u> RW>PSRW>W~ET >DRW. Ähnlicher Anstieg der Plasma-oxidationsfähigkeit von Catechin, Harnsäure in DRW und PSRW. -Doppelter Anstieg bei RW <u>Fazit der Autoren:</u> antioxidative Eigenschaften von Rotwein durch A) Harnsäure und B) Polyphenole



**Mohammed Abdul et al. 2008: „Pharmacodynamic interaction of warfarin with cranberry but not with garlic in healthy subjects.“**

<b>Fragestellung</b>	<b>Substanz und Darreichungsform</b>	<b>Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt</b>	<b>Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme</b>	<b>Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.</b>	<b>Methode</b>	<b>Ergebnis</b>
Wie beeinflussen Knoblauch- und Cranberrykapseln die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Warfarin abhängig von CYP2C9 und VKORC1-Genotyp?	Cranberrysaft-konzentrat-Kapseln (CJ), Warfarin, Knoblauchkonzentrat-Kapseln. A) 2 Kapseln CJ dreimal täglich für 21 Tage, Warfarin an Tag 14. B) Knoblauchkapseln zweimal täglich für 21 Tage, Warfarin an Tag 14 C) Nur Warfarin 9 Probanden mit CYP2C9*1/*1, 3 Probanden mit CYP2C9*1/*2, 4 Probanden mit VKORC1 Wildtyp (CC), 6 mit VKORC1 TT-Variante, 2 mit CT-Variante.	2000 mg frische Knoblauchzehen (G), äquivalent zu 3,71 Alliin pro Kapsel 500 mg Cranberrysaft-Konzentrat (CJ), äquivalent zu täglich 57 g frisches Obst. Einzeldosis Warfarin 25 mg.	Randomisierten Cross-over-Studie mit drei Studienarmen, je 21 Tage, Auswaschphase 14 Tage	16 gesunde männliche Probanden: 7 Kaukasier, 5 Asiaten, zwischen 20-35 Jahre, mittleres Alter 23. Gruppe A: CJ über 21 Tage 1x täglich, an Tag 15 1x Warfarin Gruppe B: G über 21 Tage 1x täglich, an Tag 15 1x Warfarin. Gruppe C: 1x Warfarin an Tag 15	Venöse Blutentnahme an -48, -24, 0h, 1,2,4,8,12,24,48,72,96,120,144,168 nach Warfarineinnahme: INR, Faktor II, VII, X- Aktivität. -CYP2C9 Genotypisierung mittels PCR- RFLP -VKORC1 Genotypisierung mittels PCR -Separation der Warfarin-enantiomere durch Ultrafiltration mittels HPLC	Cranberrykapseln (C) plus Warfarin (W) erhöhen den INR um 30%, verglichen mit W alleine. Keine Änderung der Pharmakokinetik oder Plasmaproteinbindung von S- oder R-Warfarin durch C. Knoblauchkapseln (K) und W: kein signifikanter Effekt. C und K: Hinweise auf VKORC1- Genotyp abhängige Interaktion mit W. Kein Effekt durch CYP2C9 Polymorphismus.

**Morillas-Ruiz et al. 2005: „The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie hoch ist der Effekt von mit Antioxidantien versetzten Getränken auf sportbedingten oxidativen Stress bei durchschnittlich trainierten Fahrradfahrern?	Polyphenolhaltiges, mit Antioxidantien versetztes Getränk (PB) vs Placebogetränk (P)	Einzeldosis von 3 ml/kg KG polyphenolhaltiges Getränk bzw. Placebogetränk Polyphenolhaltiges Getränk (PB): Schwarze Trauben (81 g/l), Himbeeren (93 g/l), rote Johannisbeere (39 g/l). totale antioxidative Kapazität 0,41 mM. Phenolgehalt: 1,41 mg/l davon Anthocyane: 60%, Hydroxyzimtsäureester: 19%, Ellagsäure: 13%, Flavonole: 6%, Stilbene: 1%	Randomisierte Placebo-kontrollierte doppelblinde Studie 1 Tag	30 männliche, gesunde Probanden, Nichtraucher, mittleres Alter 27 20 h Training/ Woche Keine Einnahme von Anabolika oder Antioxidantien	Spiroergometrie mit Monitoring der Vitalparameter und des Gasaustauschs Einnahme der Testsubstanz 15 min vor Belastung, sowie alle 15 min während der 90minütigen Belastung mit 70% V02 <sub>max</sub> venöse Blutentnahme 30 min vor und 20 min nach Belastung: Hb, Hkt, CK, Carbonylproteine, Plasma-TBARS. 8-OHdG im Urin nach Belastung.	Kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) im Plasma nach PB oder P Carbonylproteine im Plasma sanken um 29% nach dem Radfahren in der PB-Gruppe. Anstieg von 8-OHdG im Urin um 21% in der Placebogruppe. <u>Fazit der Autoren:</u> Antioxidantien wirken bei durchschnittlich trainierten Radfahrern oxidativem Stress entgegen

**Morris & Stickler 2001: „Does drinking cranberry juice produce urine inhibitory to the development of crystalline, catheter-blocking *Proteus mirabilis* biofilms?“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter	Methode	Ergebnis
Beugt die Einnahme von Cranberrysaft bei Patienten mit Blasendauerkatheter Infekt-bedingte Komplikationen vor (wie die Bildung eines Biofilms durch <i>Proteus mirabilis</i> )?	Cranberrysaft (CJ) oder Wasser zu je 2x 500 ml	Handelsüblicher Cranberrysaft der Marke Ocean Spray Ltd. Lakeville, MA, USA. Keine Information über Cranberry-Gehalt	Randomisierte Kontrollstudie 1 Tag je Versuch <u>Versuch 1:</u> Aufnahme von 500 ml CJ oder W <u>Versuch 2:</u> Aufnahme der normalen Flüssigkeitszufuhr + CJ/W	<u>Versuch 1:</u> 2 Gruppen mit insgesamt 24 männlichen gesunden Probanden: 12 CJ, 12 W. <u>Versuch 2:</u> 3 Gruppen mit je 1 Probanden	<u>Versuch 1:</u> 8 Stunden—Sammelurin. Inkubation von Urin von 12 Probanden (CJ) bzw 12 Probanden (W) in je vier Modellen mit <i>P. mirabilis</i> über 24 und 48 Stunden Bestimmung von pH, Calcium, Magnesium, Biofilm- Beurteilung mittels Elektronenmikroskopie. <u>Versuch 2:</u> 1: Kontrolle, normale Flüssigkeitsaufnahme 1: + 500 ml W um 0, 4h 1: + 500 ml CJ um 0, 4h	Nicht Cranberrysaft konnte die Inkrustation und den <i>P. mirabilis</i> Biofilm verhindern, sondern eine erhöhte Flüssigkeitszufuhr (4320 ml/24 h).

**Naissides et al. 2004: „The effect of acute red wine polyphenol consumption on postprandial lipaemia in postmenopausal women.“**

<b>Fragestellung</b>	<b>Substanz und Darreichungsform</b>	<b>Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt</b>	<b>Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme</b>	<b>Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.</b>	<b>Methode</b>	<b>Ergebnis</b>
Welchen Effekt haben Rotweinpolyphenole auf die postprandiale Lipämie bei Frauen in der Menopause mit bekannter Fettstoffwechselstörung?	Polyphenole in Rotwein (RW) und entalkoholisiertem Rotwein (DRW), Wasser (W)	Getränk zu je 400 ml Gesamtpolyphenolgehalt in RW und DRW 2,2 g/l, in Kombination mit einer gemischten Mahlzeit: 75 g Cheddarkäse (Fettgehalt 25 g) und fettfreien Keksen (Kohlenhydratgehalt 50 g)	Crossover Design mit drei Versuchssarmen, 3 Versuchstage, gefolgt von je 2 Wochen Auswaschphase	17 Probandinnen zwischen 50-70 Jahren, Nichtraucherinnen, Nichttrinkerinnen. Keine Hormonsubstitutionstherapie, keine fettsenkende Medikation, Steroide oder andere den Fettstoffwechsel beeinflussende Substanzen. Kein Warfarin. Keine kardiovaskulären Ereignisse in den letzten 6 Monaten, keine Proteinurie, kein Diabetes mellitus.	Venöse Blutentnahme vor und 6h nach Einnahme der Testsubstanz -Bestimmung von Apolipoprotein B48, Cholesterin, LDL, HDL, Triglyceride, Insulin und Blutzucker.	Keine signifikante Änderung von Apolipoprotein B48, HDL, LDL und Gesamtcholesterin nach RW, DRW, W. Erhöhung der Triglyceride (4,7 mmol/l vs. 3,0/3,2 mmol/l, um 35%) und der Insulinausschüttung (um 54%).

**Nakaishi et al. 2000: „Effects of black current anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Welchen Effekt haben Anthocyane schwarzer Johannisbeeren auf die Dunkeladaption und die Myopisierung bei Bildschirmarbeit?	A) Schwarze Johannisbeere als Konzentrat (BCA) in drei Dosierungen (12,5 mg, 20 mg, 50 mg) in Kapselform (6 Kapseln) bzw. Placebo in Kapselform Kapsel in 200 ml Wasser gelöst B) 50 mg BCA in 200 ml Wasser gelöst.	12,5, 20, 50 mg Johannisbeeren mit 9,2% Anthocyanengehalt  (4,6% Delphinidin-3-rutinosid, 2,8% Keracyanin (Cyanidin-3-rutinosid), 1,4% Delphinidin-3-glucosid, 0,4% Kuromanin (Cyanidin-3-glucosid)	Doppeltblinde placebokontrollierte Crossover-Studie 4 Versuchsgruppen: je 1 Einzeldosis des gelösten Johannisbeer-konzentrats in 3 Dosierungen und Placebo	A) Dunkeladaptions-studie: 12 gesunde Probanden, 8 Frauen, 4 Männer zwischen 24-51 Jahre, mittleres Alter 33,3 Jahre. keine ophthalmologischen Vorerkrankungen. B) Myopisierungs-Studie: 21 gesunde Probanden zwischen 20-25 Jahren keine ophthalmologischen Vorerkrankungen.	A) Messung der Dunkeladaption 1 h vor und 2 h nach Aufnahme der Testsubstanz B) visuelle Aufgabe 1 h vor und 2 h nach Einnahme der Testsubstanz	A) Die Sehschwelle nach Einnahme von BCA in jeder der Dosierungen ist niedriger als vor der Einnahme. Die Sehschwelle nach oraler Aufnahme von 50 mg BCA ist signifikant niedriger. B) Anthocyane können einer Myopisierung bei längerer Bildschirmarbeit vorbeugen

**Nigdikar et al. 1998: „Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Hat Rotwein verglichen mit anderen alkoholischen Getränken einen höheren kardioprotektiven Effekt?	Rotweinpolyphenole (RWPP), Rotwein RW, Weißwein WW, Ethanol ET (Wodka) Handelsüblicher Johannisbeersaft (Cambridge Manufacturing Co Ltd., Corby, UK) Alpha-Tocopherol (Lane Health Products Ltd., Gloucester, UK)	RW (375 ml/d), WW (375 ml/d), RWPPs (1 g/d, äquivalent zu 375 ml Rotwein/d) in Kapseln, RWPPs (1 g/d) aufgelöst in WW, oder einem alkoholischen Kontrollgetränk (40 g Ethanol/d) Anthocyaningehalt: Glucoside 44,5 mg/g RW, 56 mg/g pro Tag Polyphenolpulver	2 Wochen <u>Studie 1 (n=30):</u> 1) RW, 375ml 2) WW, 375 ml 3) WW, 375 ml plus 1g RWPP 4) RWPP Pulver 5) Kontrollgetränk (400ml/d) mit 10% Alkohol Mind. 6 Wochen Auswaschphase <u>Studie 2 (n=20):</u> 1) Johannisbeersaft mit 1g RWPP/ d 2) 2 g RWPP Kapseln als lösliches Pulver/d 3) 1000 IU (671 ml) RRR-Alpha-Tocopherol /d Mind. 4 Wochen Auswaschphase	30 gesunde männliche Probanden, Nichtraucher zwischen 35-65 Jahren Studiengruppe von 6-9 Personen	Ultrazentrifugation von Plasma-LDL Lipidperoxidation Assay	<u>Studie 1:</u> Erhöhte Polyphenolplasma-spiegel: RW (38%), WW+RWPP (27%), RWPP (28%), keine Erhöhung bei WW. Reduktion der LDL-Peroxidation: RW (32%), WW+ RWPP (29%), RWPP (28%), WW (23%). Trend zu HDL- Anstieg bei allen, nur signifikant bei WW, RWPP, ET. <u>Studie 2:</u> Anstieg der totalen antioxidativen Kapazität nach 1 g RWPP/d: 11% 2 g RWPP/d: 15% Vitamin E: 7%

**Pantuck et al. 2006: „Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer.“**

<b>Fragestellung</b>	<b>Substanz und Darreichungsform</b>	<b>Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt</b>	<b>Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme</b>	<b>Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.</b>	<b>Methode</b>	<b>Ergebnis</b>
Welche Auswirkungen hat Granatapfelsaft auf den PSA-Wert bei Prostatakarzinom-Patienten mit neuerlichem PSA-Anstieg nach Therapie?	Tägliche Aufnahme von 8 Unzen (226 g) Granatapfelsaft	570 mg Gesamt-polyphenolsäure-Äquivalenten	Offene einarmige klinische Studie über 13 Monate	48 männliche Probanden unbekannten Alters mit Prostatakarzinom-Rezidiv, Gleason < 7, PSA Wert zwischen 0,2 und 5 ng/ml, keine Metastasen.	Alle 3 Monate Messung von PSA im Serum sowie Polyphenol- und Ellagsäure in Serum und Urin	Die PSA-Verdopplungszeit war signifikant verlängert. Weitere placebokontrollierte Studien nötig

**Papamichael et al. 2004: „Red wine's antioxidants counteract acute endothelial dysfunction caused by cigarette smoking in healthy nonsmokers.“**

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Beeinflusst Rotwein-mit oder ohne Alkoholgehalt die endotheliale Dysfunktion die akut durch Zigarettenrauchen auftritt?	1 Zigarette und 250 ml Rotwein RW b) 1 Zigarette und 250 ml entalkoholisierter Rotwein DRW	250 ml RW oder DRW Ähnlicher Phenolgehalt: 658 µg/100 mL Kaffeesäure (=Dihydroxy-zimtsäure) gegenüber 650 µg/100 ml Kaffeesäure	Doppelblinde Crossover-Studie über 3 Tage	16 gesunde Probanden (8 Frauen, 8 Männer), mittleres Alter 29 Jahre, Nichtraucher, keine Vorerkrankungen oder Dauermedikation. BMI 23.	Jeweils vorhergehende Aufnahme von 30g Weißbrot und 30g Hüttenkäse anschließend A) 1 Zigarette (Tag 1) B) 1 Zigarette der gleichen Marke plus entweder RW oder DRW (Tag 2/3) -Duplexsonographie A. brachialis zum Zeitpunkt 0, und 15, 30, 60, 90 min Nichtinvasive Bestimmung der endothelialen Funktion durch FMD (Flow mediated Dilatation)	Basaler arterieller Durchmesser, FMD, Flussgeschwindigkeit in Ruhe und beschleunigter Blutfluss während der Hyperämie an den 3 Studientagen gleich. Reduktion des FMD nach 1 Zigarette. Kein verringerter FMD bei Zigarettenkonsum zeitgleich mit RW oder DRW-Aufnahme.



Papamichael et al. 2006: „Combined acute effects of red wine consumption and cigarette smoking on haemodynamics of young smokers.“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Der systolische Blutdruck steigt in den ersten Minuten nach Zigarettenrauchen unmittelbar an; kann Rotwein diesen Effekt ausgleichen?	A)1 Zigarette (12 mg Teer, 0,9 mg Nikotin) B)250 ml Rotwein RW plus 1 Zigarette (12mg Teer, 0,9 mg Nikotin) B)250 ml entalkoholisierter Rotwein DRW und 1 Zigarette	Alkoholgehalt DRW < 1%. RW: 12%. Gleicher Gehalt an Antioxidantien.	Doppeltblinde Crossover-Studie über 3 Tage	20 gesunde Probanden (8 Frauen, 12 Männer), mittleres Alter 29 Jahre, Gelegenheitsraucher, BMI 23, keine kardiovaskulären Vorerkrankungen Tag 1: Konsum von 30 g Weißbrot und 30 g Hüttenkäse, anschließend 1 Zigarette, Messung der Hämodynamik der arteriellen Blutgefäße Tag 2 und 3: Konsum von 30 g Weißbrot und 30 g Hüttenkäse, anschließend 1 Zigarette plus RW oder DRW	Nichtinvasive Messung der A. radialis: Applanations-tonometrie und Pulswellen-geschwindigkeit zum Zeitpunkt 0, sowie 30,60, 90 min nach Aufnahme der Testsubstanz Messung von Herzfrequenz, Augmentations-Index, Reflektionszeit, peripheren und zentralen systolischem und diastolischem Blutdruck	Erhöhter systolischer Blutdruck 30 Minuten nach dem Rauchen (um 4,7 mmHg). Kein RR- Anstieg bei gleichzeitigem Konsum von RW oder DRW Reduktion des Augmentationsindex durch RW und DRW

Schlager et al. 1999: „Effect of cranberry juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization.“						
Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Kann die Einnahme von Cranberrysaft-konzentrat Bakteriurie und symptomatische Harnwegsinfekte bei Kindern mit neurogener Blasenentleerungsstörung verhindern?	Cranberrysaft-konzentrat, Placebokonzentrat, jeweils als Getränk	2 Unzen (circa 56 g) Cranberrysaft-konzentrat CC oder Placebo P täglich Handelsübliches Cranberrysaft-konzentrat (Ocean Spray Cranberries, Inc, Lakeville, Mass). Keine weitere Information über Polyphenolgehalt.	Doppeltblinde, placebokontrollierte Crossover-Studie über 6 Monate, je 3 Monate tägliche Aufnahme einer der beiden Testsubstanzen	7 männliche und 8 weibliche Probanden: 15 Kinder zwischen 2-18 Jahren mit neurogener Blasenentleerungsstörung, normale Dauertherapie wurde beibehalten	CC: 160 Urinkulturen P: 151 Urinkulturen	Die Prävalenz einer Bakteriämie, v.a. E. coli betrug 75%, kein Effekt durch CC. Symptomatischer Harnwegsinfekt in je 3 Fällen. Kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Säuregrad des Urins bei CC oder P. (Urin pH 5,5 in Placebogruppe, Urin pH 6,0 in CC-Gruppe) Hypothesen: Hier wurde Konzentrat verwendet. Hat eine hohe Flüssigkeitsaufnahme einen günstigen Auswasch-Effekt und damit niedrigere Bakteriämie? Wirken die anti-adhäsiven Eigenschaften von Cranberries nur bei E. coli mit P adhesin?

Vitaglione et al. 2007: „Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides.“

Fragestellung	Substanz und Darreichungsform	Aufgenommene Menge Flavonoidgehalt	Studiendesign Zeitraum Intervall der Einnahme	Information über die Probanden: Vorerkrankungen, ggf. Nikotinstatus, Geschlecht, Alter u.a.	Methode	Ergebnis
Wie hoch ist die Bioverfügbarkeit von Anthocyanen, insbesondere Cyanidinglukosid und Protocatechusäure PCA (3,4-Dihydroxybenzoesäure) nach Aufnahme von 1 L Blutorangensaft?	Blutorangensaft BOJ, kein Placebo.	1 L Blutorangensaft 71 mg/L Cyanidinglukoside (CyG) mit 43 mg/L Cyanidin-3-glucosid (Cy-3-glc) und 28 mg/l Cyanidin-3,6-malonyl-glucosid	Einarmige, nicht placebokontrollierte Studie Einmalige Einnahme von 1 Liter Orangensaft über 15 Minuten	6 gesunde Probanden, 3 weibliche und 3 männliche Probanden zwischen 20-24 Jahren	Blut-, Urin- und Stuhlprobe vor und bis zu 24 h nach Einnahme der Testsubstanz Messung des Cyanidinglukosid-Gehaltes mittels HPLC.	Serumkonzentrationen 0,5 und 2h nach Einnahme der Testsubstanz: Cyanidin-3-glucosid (Cy-3-glc) 1,9 nmol/L (0,2% aller CyG) PCA 492 nmol/L (44% aller CyG). 1,2% CyG (davon 17% als CyG und 83% Cy-3-glc) im Urin. Kein PCA i. Urin. 42% Pelargonin i. Urin Geringe Cy-3-glc-Konz. und hohe PCA-Konz. im Stuhl nach 24h nachgewiesen. Wegen PCA-Nachweis im Stuhl Vermutung, dass PCA ein Metabolit von Cy-3-glc zusätzliche Bildung durch die Mikroflora des Colons ~ 74% der CyG konnten nachvollzogen werden; 73% der aufgenommene CyG wurde in Form von PCA in Blut, Stuhl, Urin detektiert.

## 6.2 Anhang 2: Tabellarischer Überblick über polyphenol-induzierte Nebenwirkungen und Studienabbrüche

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Albers 2004	20	KHK	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
Arendt 2005	93 Studie 1: 27 Studie 2: 76	Keine Vorerkrankungen, polyphenolarme Lebensmittel, kein Alkohol 24 h vorher	Ernährungstagebuch	4	1 x Unverträglichkeit des Testgetränks 1 x krankheitsbedingter Ausfall 1 x Beginn Nikotinkonsum 1 x Nichterscheinen	„Unverträglichkeit von entalkoholisiertem Rotwein“
Aviram 2000	16 Studie 1: 13 Studie 2: 3	Keine Vorerkrankungen	Ernährung wie gewohnt, „Gute Compliance“	k. A.	k. A.	k. A.
Banini 2006	52	Adipositas 23 nicht vorerkrankte Probanden und 29 Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2	Ernährung und Sport wie gewohnt Befragung über täglichen Weinkonsum	k. A.	k. A.	k. A.
Boban 2006	9	Keine Vorerkrankungen	Kein Sport, Gemüse, Obst, keine Nahrungsergänzungsmittel, Tee, Alkohol oder koffeinhaltige Getränke 24 vor der jeweiligen Untersuchung	k. A.	k. A.	k. A.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Bub 2001	6	Keine Vorerkrankungen	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
Caccetta 2000	12	Keine Vorerkrankungen	Keine Nahrungsergänzungsmittel 2 Wochen vor und während der Versuchsdurchführung Leichter bis mäßiger Alkoholkonsum	k. A.	k. A.	k. A.
Caccetta 2001	18	Keine Vorerkrankungen Leichter bis mäßiger Alkoholkonsum, keine nicht rezeptpflichtigen Medikamente	Messung der Compliance durch 4-O- Methylgallussäure, keine Nahrungsergänzungsmittel	k. A.	k. A.	k. A.
Carbonneau 1997	20	Keine Vorerkrankungen Leichter bis mäßiger Alkoholkonsum 10 Tage vorher kein Vitamin E, C, Alkohol, Fruchtsäfte, Tee, Coffein, Cola.	Ernährungstagebuch	k. A.	k. A.	k. A.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Cerdá 2004	6	Keine Vorerkrankungen Keine Medikation oder Nahrungsergänzungsmittel	Während des Versuchs ellagitanninreiche Ernährung verboten (Schokolade, Wein, Beeren). Polyphenolhaltige Lebensmittel (Tee, Kaffee, Früchte, Gemüse, Säfte, Olivenöl) waren limitiert	k. A.	k. A.	k. A.
Chopra 2000	22	7 Probanden mit Dauermedikation, die weitergeführt wurde. Leichter bis mäßiger Alkoholkonsum, Blutbild und Transaminase im Referenzbereich	Fragebogen hinsichtlich des Lebensstils. Ernährungstagebuch. Während des Versuchs kein Konsum von Rot- oder Weißwein	1	Persönliche Gründe	k. A.
Chou 2001	22	Dauermedikation wurde erfragt und weitergeführt.	Keinen Alkohol, Tee, kein Obst oder Vitamintabletten 4 Wochen vor Versuchsbeginn.	k. A.	k. A.	Keine unerwünschten Nebenwirkungen auf den Glukose- oder Fettstoffwechsel

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Chrubasik 2008	90	Ausschluss von schwerkranken Personen und Schwangeren	Vor Studienbeginn und Tag 13-15: Befragung der Lebensqualität anhand 10-Punkte- Beurteilungsskala. Ernährungstagebuch und notieren von unerwünschten Nebenwirkungen	10	Sechs Probanden begannen die Diät nicht. 1 Proband erschien nicht am letzten Studientag. 3 aufgrund von Nebenwirkungen, davon 1 vor Studienbeginn aufgetretene Diarrhoe, 2 aus nicht genannten Gründen.	79 verschiedene Nebenwirkungen notiert. Die Autoren werten 77 als möglicherweise substratbedingt.
Crews 2005	50	Dauermedikation wurde erfragt und weitergeführt, Änderung der Dauermedikation führte zu Studienausschluss.	Probanden führten ein Versuchstagebuch bezüglich der Merkfähigkeit. Keine Einnahme cranberryhaltiger Lebensmittel während der Studie.	3	Abbruch bzw. Ausschluss wegen Noncompliance.	Keine unerwünschten Nebenwirkungen wurden berichtet.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Di Martino 2006	20	Ausschlusskriterien: Schwangerschaft, antibiotische Therapie bis 2 Wochen vor Versuchsbeginn.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
Duthie 2005	22	Keine Vorerkrankungen, keine Medikation	Keine Nahrungs- ergänzungsmittel 3 Wochen vorher und während der Studie	2	In einem Fall wegen Antibiotikaeinnahme. In einem Fall wegen persönlicher Gründe.	k. A.
Ellinger 2008	105 Studie 1: 27 Studie 2: 78	Kein Alkohol, normale Ernährungsgewohnheiten, aber polyphenolreiche Nahrungsmittel wurden limitiert.	Ernährungstagebuch, Kontrolle der Compliance	k. A.	k. A.	k. A.



Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Erlund 2008	72	Ausschlusskriterien: Dauermedikation, Adipositas, Einnahme von Nahrungsergänzungsmittel. Normale Lebens- und Essgewohnheiten, aber Vermeiden polyphenolreicher Nahrungsmittel	Ernährungstagebuch. Zudem wurden Nebenwirkungen, wie gastrointestinale Beschwerden, notiert.	0	Ausschluss aus der Studie vor Studienbeginn in einem Fall aufgrund einer Entzündungsreaktion und Einnahme von Analgetika und Antibiotika.	k. A. Kein Studienabbruch wg. unerwünschter Nebenwirkungen.
Esmailzadeh 2004	26	Keine Nahrungsergänzungsmittel	Ernährungstagebuch (insbesondere flavonoidreiche Lebensmittel).	4	Noncompliance	k. A.
Farkas 2007	15	keine Vorerkrankungen oder Dauermedikation	k. A.	2	Studienabbruch einmal aus administrativen Gründen und einmal aufgrund nicht verwendbarer Daten in einem Studienarm	Es traten keine Nebenwirkungen auf.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Freedman 2001	20	Keine Vorerkrankungen, keine Vegetarier oder makrobiotische Ernährung. Keine Medikamente. Keine zusätzlichen polyphenolreichen Nahrungsmittel.	Ernährungstagebuch und Notieren von Nebenwirkungen.	k. A.	k. A.	k. A.
Gettman 2005	24	Kein Harnwegsinfekt, keine Lebererkrankungen, keine chronischen Erkrankungen, insbesondere Diabetes mellitus. Ausschlusskriterium Schwangerschaft. Keine Nahrungsergänzungsmittel oder Vitaminpräparate.	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
Goldberg 1996	24	Keine Vorerkrankungen oder Dauermedikation, kein Alkoholkonsum.	Ausgewogene Ernährungs- und Sportgewohnheiten	k. A.	k. A.	k. A.

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Gorelik 2008	10	Keine Vorerkrankungen, keine Extremsportler, Raucher, metabolische Vorerkrankung oder Alkoholabhängigkeit	Keine Fleisch- oder Fischgerichte	k. A.	k. A.	k. A.
Gotteland 2008	271	Kinder mit positiven $^{13}\text{C}$ Harnstoff- Atemtest	k. A.	24	21 Kinder erschienen nicht, 1 Kind wurde antibiotisch behandelt, 2 mochten das Testgetränk nicht	k. A.
Greenberg 2005	5	Positiver Uricult. Keine Allergien auf Rosinen oder Cranberries. Keine Antibiotika oder Glucocorticoide.	k. A.	0	-	k. A.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Greenlee 2004	75288	Gesunde Probanden und Probanden mit onkologischer Grunderkrankung	24-seitiger detaillierter Fragebogen: Einnahme von Vitaminen, Mineralien und pflanzlichen Präparaten in den letzten 10 Jahren Morbidityscore	0	Keine, da Selbsteinnahme	k. A.
Greenrod 2005	6	Polyphenolarme Ernährung.	Fragebogen über Gesundheit, Lebensstil, Alkoholkonsum.	k. A.	k. A.	k. A.

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Heber 2007	88 Studie 1: 64 Studie 2: 24	Adipositas. Nichtraucher.	Flavonoidarme Ernährung.	2 aus Studie 2	Persönliche Gründe, nicht aufgrund von Nebenwirkungen	Keine ernsten unerwünschten Nebenwirkungen. 9 von 64 berichten von 11 versch. geringen unerwünschte Nebenwirkungen, keine davon in ursächlichem Zusammenhang mit der Testsubstanz. Davon 2 in der Niedrigdosis- gruppe (n=27) 5 in der Hochdosisgruppe (n=28). 2 werden nicht genannt.

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Herrera- Arellano 2007	193	arterieller Hypertonie Stadium I- II ohne Medikation 30 Tage vor Versuchsbeginn	k. A.	26	2 wegen hypertensiver Krise 1 wegen angioneurotischem Ödem. 22 wegen Noncompliance, 1 aus nicht-med. Gründen. Kein Unterschied hinsichtl. Abbruchquote in Kontroll- oder Versuchsgruppe.	Einige milde, transiente Nebenwirkungen: „häufig“: Kopfschmerz und Verschwommen- sehen in beiden Gruppen, jeweils in den ersten 2 Wochen. In zwei Fällen Nervosität (Versuchsgruppe)
Hozumi 2006	20	Bekannte KHK (n=10), keine Vorerkrankung (n=10) Nichtraucher, kein Alkohol	Normale Ernährungsgewohnheiten n	k. A.	k. A.	k. A.

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Imhof 2008	49	Gesund, Transaminasen im Referenzbereich, moderater Alkoholkonsum	Normale Ernährungs- und Sportgewohnheiten, es wurde nach entzündlichen Prozessen gefragt. Tagebuch über Compliance: Diese wurde als exzellent bewertet	7	k. A.	k. A.
Kiviniemi 2007	22	Keine Vorerkrankungen, Nichtraucher	Kein Koffein und Nikotin am Vortag	1	Kopfschmerzen durch Rotwein	k. A.
Kontiokari 2001	150	Harnwegsinfekt mit E. coli	54 % füllten einen Fragebogen hinsichtlich Compliance aus	13 (4 der Cranberrygruppe (8%), 4 der Lactobacillus Gruppe (8%), 5 der Kontrollgruppe (10%))	Vor allem aufgrund Wohnortwechsels, andere Gründe nicht genannt	Keine, außer bitterer Geschmack des Cranberrysaft

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Lavigne 2007	8	Keine antibiotische Therapie, keine Schwangerschaft	Normale Ernährungsgewohnheiten	k. A.	k. A.	k. A.
Matsuo 2001	6	Keine Vorerkrankungen	Nikotinkarenz 24 h vor und während der Versuchsdurchführung, keine Polyphenole, Tee, Kaffee 12 vor Versuchsdurchführung	k. A.	k. A.	k. A.
McHarg 2003	20	Keine Vorerkrankungen, insbesondere keine Nierensteinbildung in der Vorgeschichte	Ernährungstagebuch	k.A.	k.A.	k.A.



Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
McMurdo 2005	376	Keine Medikation mit Warfarin Kein Alkoholkonsum, keine antibiotische Therapie	k. A. keine regelmäßige Einnahme von Cranberrysaft	115 (30%): 62 Probanden der Kontrollstudie (K), 53 Probanden der Versuchsgruppe (V)	-Noncompliance: 25 (K) bzw. 23 (V). -12 bzw. 13 Probanden mochten das Testgetränk nicht. 11 bzw. 7 Abbrüche aufgrund Anlage eines Blasenkatheters. -Todesfälle: 2 (K) bzw. 3 (V) -gastrointestinale Beschwerden 4 bzw. 2, -Hautrötung und Juckreiz: 1 (V), erhöhter Blutzuckerspiegel bei bekanntem Diabetes mellitus: 1 (V) -keine Angabe in den restlichen 11 Fällen	Alle 13 Nebenwirkungen sowie die Gründe für einen Studienabbruch wurden notiert
Mertens-Talcott 2006	13	Keine Vorerkrankungen	Polyphenolarme Ernährung	2	Persönliche Gründe	k. A.

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Modun 2006	9	Keine Vorerkrankungen	24 h vor Versuchsbeginn polyphenolfreie Kost, kein Sport, kein Alkohol	k. A.	k. A.	k. A.
Mohammed- Abdul 2008	16	Keine Vorerkrankungen	Adhärenz, Wohlbefinden und Nebenwirkungen wurden durch regelmäßige Telefonanrufe und E- Mail-Kontakt abgefragt	4	2 aus persönlichen Gründen, 2 wegen Nichterscheinens	Zwei Probanden der Cranberry-Warfarin- Gruppe berichteten von Hauterythem, einer von Nasenbluten 72 h nach Einnahme von Warfarin und Cranberrysaft. Ein Proband der Knoblauch- Gruppe berichtete von Trockenheit der Lippen. In der Warfarin-Gruppe wurden keine unerwünschten Nebenwirkungen berichtet.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Morillas-Ruiz 2005	30	Keine Vitaminpräparate, Anabolika oder Drogenkonsum.	Detailliertes Ernährungstagebuch	k. A.	k. A.	k. A.
Morris & Stickler 2001	27 Studie 1: 24 Studie 2: 3	Keine zusätzliche Einnahme von Cranberrysaft	normale Ernährungs- gewohnheiten	k. A.	k. A.	k. A.
Naissides 2004	17	Keine Vorerkrankungen	Ernährungstagebuch kein Nikotin, kein Alkohol	k. A.	k. A.	k. A.
Nakaishi 2000	33 Studie 1: 12 Studie 2: 21	Keine ophthalmologischen Vorerkrankungen	Polyphenolfreie Diät am Versuchstag	k. A.	k. A.	k. A.

<b>Autor</b>	<b>n</b>	<b>Auflagen</b>	<b>Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance</b>	<b>Abbrecher</b>	<b>Gründe für Abbruch</b>	<b>NW durch PP</b>
Nigdikar 1998	30	Keine Vorerkrankungen, keine Adipositas	Kein Alkohol über 14 d vor Versuchs- durchführung, normale Lebens- und Ernährungsgewohnheiten	k. A.	k. A.	k. A.
Pantuck 2006	48	Prostatakarzinom- Rezidiv	k. A.	2	Abbruch vor der ersten Evaluation aus unbekannten Gründen	Keine. Behandlung wurde gut vertragen
Papamichael 2004	16	Keine Vorerkrankungen, keine Dauermedikation, keine oralen Kontrazeptiva	Überprüfung der Compliance nach 24 h, keine Nahrungsergänzungsmittel	0	-	Keine

Autor	n	Auflagen	Ernährungstagebuch/ Kontrolle der Compliance	Abbrecher	Gründe für Abbruch	NW durch PP
Papamichael 2006	20	Gelegenheitsraucher, BMI 23, keine kardiovaskulären Vorerkrankungen, keine oralen Kontrazeptiva	Überprüfung der Compliance nach 24 h, keine Nahrungsergänzungs- mittel, vor dem Versuch kein Alkohol, Kaffee, Nikotin.	0	-	Keine
Schlager 1999	15	Neurogene Blasenstörung	Wöchentliche Besuche zur Überprüfung der Compliance	k. A.	k. A.	k. A.
Vitaglione 2007	6	Keine Vorerkrankungen, keine antibiotische Therapie	Normale Diät, polyphenolfreie Nahrung 2 h vor Versuchsbeginn	k. A.	k. A.	k. A.

## 7 Literaturverzeichnis

Afaq F, Zaman N, Khan N, Syed DN, Sarfaraz S, Zaid MA, Mukhtar H: Inhibition of epidermal growth factor receptor signaling pathway by delphinidin, an anthocyanidin in pigmented fruits and vegetables. *Int J Cancer*. 2008 Oct; 123 (7), S. 1508-15.

Albers AR, Varghese S, Vitseva O, Vita JA, Freedman JE: The antiinflammatory effects of purple grape juice consumption in subjects with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Nov; 24 (11), S. 179-80.

Arendt BM, Ellinger S, Kekic K, Geus L, Fimmers R, Spengler U, Müller WU, Goerlich R: Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial (ISRCTN68505294). *Nutr J*. 2005 Nov; 4, S. 33.

Arzbach V: BfArM. Neue Online-Datenbank zu Nebenwirkungen. In: *Pharmazeutische Zeitung*, 18, 2013.

Ashalatha K, Venkateswarlu Y, Priya AM, Lalitha P, Krishnaveni M, Jayachandran S: Antiinflammatory potential of *Decalepis hamiltonii* (Wight and Arn) as evidenced by down regulation of pro inflammatory cytokines-TNF-alpha and IL-2. *J Ethnopharmacol*. 2010 Jul; 130 (1), S. 167-70.

Aston JL, Lodolce AE, Shapiro NL: Interaction between warfarin and cranberry juice. *Pharmacotherapy*. 2006 Sep; 26 (9), S. 1314-9.

Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B: Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr*. 2000 May; 71 (5), S. 1062-76.

Aviram M, Fuhrman B: Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 May; 957, S. 146-61.

Banini AE, Boyd LC, Allen JC, Allen HG, Sauls DL: Muscadine grape products intake, diet and blood constituents of non-diabetic and type 2 diabetic subjects. *Nutrition*. 2006 Nov-Dec; 22 (11-12), S. 1137-45.

Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT: Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern Med* 2013 Mar; 173 (5), S. 355- 61.

Bäßler KH, Fekl W, Lang K: *Grundbegriffe der Ernährungslehre*. 4. überarbeitete Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1987.

Bäßler KH, Lang K: Vitamine. Eine Einführung für Studierende der Medizin, Biologie, Chemie, Pharmazie und Ernährungswissenschaft. Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt 1975.

Benavente-García O, Castillo J: Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J Agric Food Chem.* 2008 Aug; 56 (15), S. 6185-205.

Bendich A, Olson JA: Biological actions of carotenoids. *FASEB J.* 1989 Jun; 3 (8), S. 1927-32.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L: Biochemie. 5. Auflage, Spektrum Gustav Fischer akademischer Verlag, Berlin Heidelberg 2003

Berger F, Paulmurugan R, Bhaumik S, Gambhir SS: Uptake kinetics and biodistribution of <sup>14</sup>C-D-luciferin – a radiolabeled substrate for the firefly luciferase catalyzed bioluminescence reaction: impact on bioluminescence based reporter gene imaging, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2008 Dec; 35 (12), S. 2275-85.

Bernet-Camard MF, Liévin V, Brassart D, Neeser JR, Servin AL, Hudault S: The human *Lactobacillus acidophilus* strain LA1 secretes a nonbacteriocin antibacterial substance(s) active in vitro and in vivo. *Appl Environ Microbiol.* 1997 Jul; 63 (7), S. 2747-53.

Bermudez-Soto M, Larrosa M, Garcia-Cantalejo J, Espin J, Tomás-Barberan F, García-Conesa M: Up-regulation of tumor suppressor carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in human colon cancer caco-2 cells following repetitive exposure to dietary levels of a polyphenol-rich chokeberry juice. *J of Nutrl Biochem,* 2007 Apr, 18 (4), S. 259–71.

Bernaudo FS, Rodrigues TC: Dietary fiber - adequate intake and effects on metabolism health, *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2013 Aug; 57 (6), S. 397-405.

Biesalski HK, Grimm P: Taschenatlas Ernährung, 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2015.

Boban M, Modun D, Music I, Vukovic J, Brizic I, Salamunic I, Obad A, Palada I, Dujic Z: Red wine induced modulation of vascular function: separating the role of polyphenols, ethanol, and urates. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006 May; 47 (5), S. 695-701.

Bourrié M, Meunier V, Berger Y, Fabre G: Role of cytochrome P-450C9 in irbesartan oxidation by human liver microsomes. *Drug Metabol Dispos* 1999 Feb; 27 (2), S. 288-96.

Bub A, Watzl B, Heeb D, Rechkemmer G, Briviba K: Malvidin-3-glucoside bioavailability in humans after ingestion of red wine, dealcoholized red wine and grape juice. *Eur J Nutr.* 2001 Jun; 40 (3), S. 113-20.

Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D: Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Arch Intern Med.* 2006 Feb; 166 (4), S. 411-7.

Bundesministerium der Justiz für Verbraucherschutz: Verordnung über Nahrungsergänzungsmittel (Nahrungsergänzungsmittelverordnung – NemV, § 4 (2) der NemV, BGBl. I 204, 1011, Ausfertigungsdatum: 24.05.2004

Bundesinstitut für Risikobewertung Berlin: Lebensmittel mit Pflanzensterol- und Pflanzenstanol-Zusatz: Bewertung einer neuen Studie aus den Niederlande. Stellungnahme 006/2012 des BfR vom 1. Dezember 2011, ergänzt am 21. Januar 2013, S. 1-7.

Burger O, Ofek I, Tabak M, Weiss EI, Sharon N, Neeman I: A high molecular mass constituent of cranberry juice inhibits helicobacter pylori adhesion to human gastric mucus. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000 Dec; 29 (4), S. 295-301.

Brøsen K: Are pharmacokinetic drug interactions with the SSRIs an issue? *Int Clin Psychopharmacol.* 1996 Mar; 11 (1), S. 23-7.

Caccetta RA, Croft KD, Beilin LJ, Puddey IB: Ingestion of red wine significantly increases plasma phenolic acid concentrations but does not acutely affect ex vivo lipoprotein oxidizability. *Am J Clin Nutr.* 2000 Jan; 71 (1), S. 67-74.

Caccetta RA, Burke V, Mori TA, Beilin LJ, Puddey IB, Croft KD: Red wine polyphenols, in the absence of alcohol, reduce lipid peroxidative stress in smoking subjects. *Free Radic Biol Med.* 2001 Mar; 30 (6), S. 636-42.

Cali JJ, Ma D, Sobol M, Good T, Liu D: P450-Glo™ CYP2C19 and CYP2D6 assay and screening systems: the method of choice for in vitro P450 assays, *Promega Cell Notes* 2006, 14, S. 20-24.

Cali J, Sobol M, Ma D, Liu D: Screen for cytochrome P450 activity using a luminescent assay, *Promega Cell Notes* 2005, 13, S. 8-10.

Carbonneau MA, Léger CL, Monnier L, Bonnet C, Michel F, Fouret G, Dedieu F, Descomps B: Supplementation with wine phenolic compounds increases the antioxidant capacity of plasma and vitamin E of low-density lipoprotein without changing the lipoprotein Cu (2+)-oxidizability: possible explanation by phenolic location. *Eur J Clin Nutr.* 1997 Oct; 51 (10), S. 682-90.

Cascorbi I: Drug interaction- principles, examples and clinical consequences. *Dtsch Arztebl Int* 2012 Aug; 109 (33-34), S. 546-56.



Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE: Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov; 340 (8828), S. 1111-5.

Cerdá B, Espín JC, Parra S, Martínez P, Tomás-Barberán FA: The potent in vitro antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolised into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. *Eur J Nutr*. 2004 Aug; 43 (4), S. 205-20.

Chatterjee A, Yasmin T, Bagchi D, Stohs SJ: Inhibition of *Helicobacter pylori* in vitro by various berry extracts, with enhanced susceptibility to clarithromycin. *Mol Cell Biochem*. 2004 Oct; 265 (1-2), S. 19-26.

Chopra M, Fitzsimons PE, Strain JJ, Thurnham DI, Howard AN: Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clin Chem*. 2000 Aug; 46 (8 Pt 1), S. 1162-70.

Chopra M, Frölich S, Schrenk D: Isoflavone und L-Carnitin: Mehr Risiko als Nutzen. In: *Pharmazeutische Zeitung*, 26, 2010.

Chou EJ, Keevil JG, Aeschlimann S, Wiebe DA, Folts JD, Stein JH: Effect of ingestion of purple grape juice on endothelial function in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol*. 2001 Sep; 88 (5), S. 553-5.

Chrubasik C, Maier T, Dawid C, Torda T, Schieber A, Hofmann T, Chrubasik S: An observational study and quantification of the actives in a supplement with *Sambucus nigra* and *Asparagus officinalis* used for weight reduction. *Phytother Res*. 2008 Jul; 22 (7), S. 913-8.

Contag PR, Olomu IN, Stevenson DK, Contag CH: Bioluminescent indicators in living mammals, *Nat Med*. 1998 Feb; 4 (2), S. 245-7.

Corradini E, Foglia P, Giansanti P, Gubbiotti R, Samperi R, Lagana A: Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Nat Prod Res*. 2011 Mar; 25 (5), S. 469-95.

Crews WD Jr, Harrison DW, Griffin ML, Addison K, Yount AM, Giovenco MA, Hazell J: A double-blinded, placebo-controlled, randomized trial of the neuropsychologic efficacy of cranberry juice in a sample of cognitively intact older adults: pilot study findings. *Altern Complement Med*. 2005 Apr; 11 (2), S. 305-9.

Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN: Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat Prod Rep*. 2009 Aug; 26 (8), S. 1001-43.

Davis TA, Mungunsukh O, Zins S, Day RM, Landauer MR: Genistein induces radioprotection by hematopoietic stem cell quiescence. *Int J Radiat Biol*. 2008 Sep; 84 (9), S. 713-26.

Davis JM, Murphy EA, McClellan JL, Carmichael MD, Gangemi JD: Quercetin reduces susceptibility to influenza infection following stressful exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008 Aug; 295 (2), S. 505-9.

Dilge Taşkın B, Kula S, Ergün MA, Altun D, Olguntürk R, Tunaoglu FS, Oğuz AD, Gürsel T: The effect of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphisms on warfarin dose requirements in a pediatric population *Anatol J Cardiol*. 2016 Jan.

Di Mascio P, Kaiser S, Sies H: Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher, *Arch Biochem Biophys*. 1989 Nov; 274 (2), S. 532-8.

Di Martino P, Agniel R, David K, Templer C, Gaillard JL, Denys P, Botto H: Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol*. 2006 Feb; 24 (1), S. 21-7.

Dreiseitel A, Schreier P, Oehme A, Locher S, Hajak G, Sand PG: Anthocyanins and their metabolites are weak inhibitors of cytochrome P450 3A4, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 2008, S. 1428-33.

Dreiseitel A, Schreier P, Oehme A, Locher S, Rogler G, Piberger H, Hajak G, Sand PG: Anthocyanins and anthocyanidins are poor inhibitors of CYP2D6, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 31, 2009, S. 3-9.

Duthie GG, Kyle JA, Jenkinson AM, Duthie SJ, Baxter GJ, Paterson JR: Increased salicylate concentrations in urine of human volunteers after consumption of cranberry juice. *J Agric Food Chem*. 2005 Apr; 53 (8), S. 2897-900.

Eccli E, Pedri U: Die Polyphenole des Weines. *Obstbau Weinbau* 2007, 44 (3), S. 104.

Ellinger S, Arendt BM, Fimmers R, Stehle P, Spengler U, Goerlich R: Bolus ingestion but not regular consumption of native or dealcoholized red wine modulates selected immunological functions of leukocytes in healthy volunteers. *Ann Nutr Metab*. 2008; 52 (4), S. 288-95.

Erdman JW, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer JT, Folts J, Harnly J, Hollman P, Keen CL, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G, Burrowes J: Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC, *J Nutr*. 2007 Mar; 137 (3 Suppl 1), S. 718-37.

Erlund I, Koli R, Alfthan G, Marniemi J, Puukka P, Mustonen P, Mattila P, Jula A: Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr*. 2008 Feb; 87 (2), S. 323-31.

Esmailzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, Alavi-Majd H, Azadbakht L: Concentrated pomegranate juice improves lipid profiles in diabetic patients with hyperlipidemia. *J Med Food*. 2004 Fall; 7 (3), S. 305-8.

Fang J: Bioavailability of anthocyanins. *Drug Metab Rev*. 2014 Nov; 46 (4), S. 508-20.

Farkas D, Oleson LE, Zhao Y, Harmatz JS, Zinny MA, Court MH, Greenblatt DJ: Pomegranate juice does not impair clearance of oral or intravenous midazolam, a probe for cytochrome P450-3A activity: comparison with grapefruit juice. *J Clin Pharmacol*. 2007 Mar; 47 (3), S. 286-94.

Fleschhut J, Kratzer F, Rechkemmer G, Kulling SE: Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *Eur J Nutr*. 2006 Feb; 45 (1), S. 7-18.

Fischer HD, Juurlink DN, Mamdani MM, Kopp A, Laupacis A: Hemorrhage during warfarin therapy associated with cotrimoxazole and other urinary tract anti-infective agents: a population-based study. *Arch Intern Med*. 2010 Apr; 170 (7), S. 617-21.

Freedman JE, Parker C 3rd, Li L, Perlman JA, Frei B, Ivanov V, Deak LR, Iafrati MD, Folts JD: Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation*. 2001 Jun; 103 (23), S. 2792-8.

Freissmuth M, Offermanns S, Böhm S: *Pharmakologie und Toxikologie. Von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*, 2., überarbeitete und erweiterte Auflage Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016.

Garcia Alonso M, Minihane AM, Rimbach G, Rivas-Gonzalo JC, de Pascual-Teresa S: Red wine anthocyanins are rapidly absorbed in humans and affect monocyte chemoattractant protein 1 levels and antioxidant capacity of plasma. *J Nutr Biochem*. 2009 Jul; 20 (7), S. 521-9.

Gerhauser C: Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. *Planta Med*. 2008 Oct; 74 (13), S. 1608-24.

Gettman MT, Ogan K, Brinkley LJ, Adams-Huet B, Pak CY, Pearle MS: Effect of cranberry juice consumption on urinary stone risk factors. *J Urol*. 2005 Aug; 174 (2), S. 590-4.

Gheysens O, Gambhir SS: Studying molecular and cellular processes in the intact organism. In: Rudin, M. (Hrsg.): *Progress in Drug Research. Imaging in Drug Discovery and Early Clinical Trials*, 62, Birkhäuser-Verlag, Basel 2005, S. 134-42.

Goldberg DM, Garovic-Kocic V, Diamandis EP, Pace-Asciak CR: Wine: does the colour count? *Clin Chim Acta*. 1996 Mar 15; 246 (1-2), S. 183-93.

Gorelik S, Ligumsky M, Kohen R, Kanner J: A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products. *FASEB J*.

2008 Jan; 22 (1), S. 41-6.

Gotteland M, Brunser O, Cruchet S: Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther.* 2006 Apr; 23 (8), S. 1077-86.

Gotteland M, Andrews M, Toledo M, Muñoz L, Caceres P, Anziani A, Wittig E, Speisky H, Salazar G: Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children. *Nutrition.* 2008 May; 24 (5), S. 421-6.

Greenberg JA, Newmann SJ, Howell AB: Consumption of sweetened dried cranberries versus unsweetened raisins for inhibition of uropathogenic *Escherichia coli* adhesion in human urine: a pilot study. *J Altern Complement Med.* 2005 Oct; 11 (5), S. 875-8.

Greenlee H, White E, Patterson RE, Kristal AR; Vitamins and Lifestyle (VITAL) Study Cohort: Supplement use among cancer survivors in the Vitamins and Lifestyle (VITAL) study cohort. *J Altern Complement Med.* 2004 Aug; 10 (4), S. 660-6.

Greenrod W, Stockley CS, Burcham P, Abbey M, Fenech M: Moderate acute intake of de-alcoholized red wine, but not alcohol, is protective against radiation-induced DNA damage *ex vivo* -- results of a comparative *in vivo* intervention study in younger men. *Mutat Res.* 2005 Dec; 591 (1-2), S. 290-301.

Griffiths AP, Beddall A, Pegler S: Fatal haemopericardium and gastrointestinal haemorrhage due to possible interaction of cranberry juice with warfarin. *J R Soc Promot Health.* 2008 Nov; 128 (6), S. 324-6.

Gutierrez JM, Carvalho FB, Schetinger MR, Marisco P, Agostinho P, Rodrigues M, Rubin MA, Schmatz R, da Silva CR, de P Cognato G, Farias JG, Signor C, Morsch VM, Mazzanti CM, Bogo M, Bonan CD, Spanevello R: Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. *Life Sci.* 2014 Feb; 96 (1-2), S. 7-17.

Graf D, Seifert S, Bub A, Fröhling B, Dold S, Unger F, Römpf A, Watzl B: Anthocyanin-rich juice does not affect gut-associated immunity in Fischer rats. *Mol Nutr Food Res.* 2013 Oct; 57 (10), S. 1753-61.

Graf D, Seifert S, Jaudszus A, Bub A, Watzl B: Anthocyanin-Rich Juice Lowers Serum Cholesterol, Leptin, and Resistin and Improves Plasma Fatty Acid Composition in Fischer Rats. *PLoS ONE*, 2013; 8(6): e66690.

Hansson GK: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005 Apr; 352 (16), S. 1685-95.

Harris P, Rees R: The prevalence of complementary and alternative medicine use among the general population: a systematic review of the literature. *Complement Ther Med.* 2000 Jun; 8 (2), S. 88-96.

Heber D, Seeram NP, Wyatt H, Henning SM, Zhang Y, Ogden LG, Dreher M, Hill JO: Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitannin-enriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. *J Agric Food Chem.* 2007 Nov 28; 55 (24), S. 10050-4.

Heimark LD, Wienkers L, Kunze K, Gibaldi M, Eddy AC, Trager WF, O'Reilly RA, Goulart DA: The mechanism of the interaction between amiodarone and warfarin in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 1992 Apr; 51 (4), S. 398-407.

Heiss C, Kleinbongard P, Dejam A, Perré S, Schroeter H, Sies H, Kelm M: Acute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Oct; 46 (7), S. 1276-83.

Henning SM, Niu Y, Lee NH, Thames GD, Minutti RR, Wang H, Go VL, Heber D: Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement. *Am J Clin Nutr.* 2004 Dec; 80 (6), S. 1558-64.

Herrera-Arellano A, Miranda-Sánchez J, Avila-Castro P, Herrera-Alvarez S, Jiménez-Ferrer JE, Zamilpa A, Román-Ramos R, Ponce-Monter H, Tortoriello J: Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial. *Planta Med.* 2007 Jan; 73 (1), S. 6-12.

Hozumi T, Sugioka K, Shimada K, Kim SH, Kuo MY, Miyake Y, Fujimoto K, Otsuka R, Watanabe H, Hosoda K, Yoshikawa J, Homma S: Beneficial effect of short term intake of red wine polyphenols on coronary microcirculation in patients with coronary artery disease. *Heart.* 2006 May; 92 (5), S. 681-2.

Imhof A, Blagieva R, Marx N, Koenig W: Drinking modulates monocyte migration in healthy subjects: a randomised intervention study of water, ethanol, red wine and beer with or without alcohol. *Diab Vasc Dis Res.* 2008 Mar; 5 (1), S. 48-53.

Jin SE, Seo CS, Shin HK, Ha H: Traditional Herbal Formulas to as Treatments for Musculoskeletal Disorders: Their Inhibitory Effects on the Activities of Human Microsomal Cytochrome P450s and UDP-glucuronosyltransferases. *Pharmacogn Mag.* 2016 Oct-Dec; 12 (48), S. 241-52.

Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Lüscher TF: Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation.* 1995 Mar;91 (5), S. 1314-9.

Johnston BC, Goldenberg JZ, Parkin PC: Probiotics and the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Infants and Children. *JAMA.* 2016 Oct, 316 (14), S. 1484-1485.

Joseph JA, Shukitt-Hale B, Casadesus G: Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds, *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005 Jan; 81 (1), S. 313-16.

Junius-Walker U, Theile G, Hummers-Pradier E: Prevalence and predictors of polypharmacy among older primary care patients in Germany. *Fam Pract.* 2007 Feb; 24 (1), S. 14-9.

Kahle K, Kempf M, Schreier P, Scheppach W, Schrenk D, Kautenburger T, Hecker D, Huemmer W, Ackermann M, Richling E: Intestinal transit and systemic metabolism of apple polyphenols. *Eur J Nutr.* 2011 Oct; 50 (7), S. 507-22.

Kelly ER, Plat J, Mensink RP, Berendschot TT: Effects of long term plant sterol and -stanol consumption on the retinal vasculature: A randomized controlled trial in statin users. *Atherosclerosis* 214, 2011, S. 225–30.

Kim SH, Kim DH, Byeon JY, Kim YH, Kim DH, Lim HJ, Lee CM, Whang SS, Choi CI, Bae JW, Lee YJ, Jang CG, Lee SY: Effects of CYP2C9 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of celecoxib and its carboxylic acid metabolite. *Arch Pharm Res.* 2016 Nov 18. [Epub ahead of print]

Kiviniemi TO, Saraste A, Toikka JO, Saraste M, Raitakari OT, Pärkkä JP, Lehtimäki T, Hartiala JJ, Viikari J, Koskenvuo JW: A moderate dose of red wine, but not de-alcoholized red wine increases coronary flow reserve. *Atherosclerosis.* 2007 Dec; 195 (2), S. 176-81.

Klinke R, Pape HC, Silbernagl S: *Physiologie.* 6. vollständig überarbeitete Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart 2009, S. 407- 508.

Knauf F: Neue Einblicke in die Pathogenese der Nierensteine. *Der Nephrologe* May 2014; 9 (3), S. 196-203.

Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M: Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ.* 2001 Jun; 322 (7302), S. 1571.

Kulling SE, Watzl B: Phytoöstrogene. Basiswissen aktualisiert. In: *Ernährungs-Umschau* 50, (6), 2003, S. 234.

Kurutas EB, Gumusalan Y, Cetinkaya A, Dogan E: Evaluation of method performance for oxidative stress biomarkers in urine and biological variations in urine of patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Biol Proced Online.* 2015 Feb;17(1), S. 3.

Lamy S, Blanchette M, Michaud-Levesque J, Lafleur R, Durocher Y, Moghrabi A, Barrette S, Gingras D, Béliveau R, Lamy S, Blanchette M, Michaud-Levesque J, Lafleur R, Durocher Y, Moghrabi A, Barrette S, Gingras D, Béliveau R: Delphinidin, a

dietary anthocyanidin, inhibits vascular endothelial growth factor receptor-2 phosphorylation. *Carcinogenesis*. 2006 May; 27 (5), S. 989-96.

Lavigne JP, Bourg G, Botto H, Sotto A: Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) and urinary tract infections: study model and review of literature. *Pathol Biol (Paris)*. 2007 Nov; 55 (8-9), S. 460-4.

Leite PM, Martins MA, Castilho RO: Review on mechanisms and interactions in concomitant use of herbs and warfarin therapy. *Biomed Pharmacother*. 2016 Oct; 83. S. 14-21.

Leitzmann C, Müller C, Michel P, Brehe U, Hahn A, Luabe A: Ernährung in Prävention und Therapie., 2. Auflage, MVS Medizinverlage Stuttgart 2003, S. 116.

Le Marchand L, Yoshizawa CN, Kolonel L, Hankin JH, Goodman MT: Vegetable consumption and lung-cancer risk: a population-based case-control study in Hawaii. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Aug; 81 (15), S. 1158-64.

Lengsfeld C, Deters A, Faller G, Hensel A: High molecular weight polysaccharides from black currant seeds inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Planta Med*. 2004 Jul; 70 (7), S. 620-6.

Lenßen R, Heidenreich A, Schulz JB, Trautwein C, Fitzner C, Jaehde U, Eisert A: Analysis of drug-related problems in three departments of a German University hospital. *Int J Clin Pharm*. 2016 Feb; 38(1), S. 119-26.

Leufkens HG: The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics. *Eur J Pharmacol* 2000. Dec; 410 (2-3), S. 121-130.

Leufkens HG, Urquhart J: Automated record linkage and other approaches to pharmacoepidemiology in the Netherlands. In: Strom BL (ed): *Pharmacoepidemiology*. 2nd ed., Chichester: John Wiley and Sons, 1995, S. 231-244.

Levy RH: Cytochrome P450 isozymes and antiepileptic drug interactions. *Epilepsia*. 1995; 36 (5), S. 8-13.

Li T, Lange LA, Li X, Susswein L, Bryant B, Malone R et al. (2006a): Polymorphisms in the VKORC1 gene are strongly associated with warfarin dosage requirements in patients receiving anticoagulation. *J Med Genet*. 2006 Sep; 43 (9), S. 740–44.

Lin YJ, Hou YC, Lin CH, Hsu YA, Sheu JJ, Lai CH, Chen BH, Lee Chao PD, Wan L, Tsai FJ: Puerariae radix isoflavones and their metabolites inhibit growth and induce apoptosis in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Jan; 378 (4), S. 683-8.

Linton MF, Fazio S: Macrophages, inflammation, and atherosclerosis. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Dec; 27 (3), S. 35-40.

Löffler G: Basiswissen Biochemie, 6. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2005.

Lu Y, Won KA, Nelson BJ, Qi D, Rausch DJ, Asinger RW: Characteristics of the amiodarone-warfarin interaction during long-term follow-up. *Am J Health Syst Pharm*. 2008 May; 65 (10), S. 947-52.

Lynch T, Price A: The Effect of Cytochrome P450 Metabolism on Drug Response, Interactions, and Adverse Effects, In: *American Family Physician* 2007 Aug; 76 (3), S. 391-6.

Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR, Berry EA: Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care*. 2004 Sep; 27 (9), S. 2166-71.

Mason P: Dietary Supplements, 3. Auflage, Pharmaceutical Press, London 2007.

Matsumoto H, Nakamura Y, Tachibanaki S, Kawamura S, Hirayama M: Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin, *J Agric Food Chem*. 2003 Jun; 51 (12), S. 3560-3.

Matsuo S, Nakamura Y, Takahashi M, Ouchi Y, Hosoda K, Nozawa M, Kinoshita M: Effect of red wine and ethanol on production of nitric oxide in healthy subjects. *Am J Cardiol*. 2001 Apr; 87 (8), S. 1029-31.

Max-Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel: Nationale Verzehrsstudie II, Teil 2. 2005-7. Herausgegeben 2008.

McGhie TK, Walton MC: The bioavailability and absorption of anthocyanins: Towards a better understanding, *Mol Nutr Food Res*. 2007 Jun; 51 (6), S. 702-13.

McHarg T, Rodgers A, Charlton K: Influence of cranberry juice on the urinary risk factors for calcium oxalate kidney stone formation *BJU Int*. 2003 Nov; 92 (7), S. 765-8.

McMurdo ME, Bissett LY, Price RJ, Phillips G, Crombie IK: Does ingestion of cranberry juice reduce symptomatic urinary tract infections in older people in hospital? A double-blind, placebo-controlled trial. *Age Ageing*. 2005 May; 34 (3), S. 256-61.

Mertens-Talcott SU, Jilma-Stohlawetz P, Rios J, Hingorani L, Derendorf H: Absorption, metabolism, and antioxidant effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenols after ingestion of a standardized extract in healthy human volunteers. *J Agric Food Chem*. 2006 Nov; 54 (23), S. 8956-61.

Michaelis L, Menten ML: Die kinetik der invertinwirkung. *Biochem. z* 49. 1913, 352, S. 333-69.



Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthésy-Theulaz I: Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (johnsonii) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion*. 1999; 60 (3), S. 203-9.

Miller VP, Stresser DM, Blanchard AP, Turner S, Crespi CL: Fluorometric high-throughput screening for inhibitors of cytochrome P450, *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 919, S. 26-32.

Müller H: Die tägliche Aufnahme von Carotinoiden (Carotine und Xanthophylle) aus Gesamtnahrungsproben und die Carotinalte ausgewählter Gemüse- und Obstarten. *Z Ernährungswiss* 1996, 35 (1), S. 45-50.

Müller-Oerlinghausen B, Garbe E: Datenbanken im Ausland für die Arzneimittelforschung nach der Zulassung: Ein Modell auch für Deutschland? *Dtsch Arztebl* 1998; 95 (49), S. 3138-43.

Modun D, Music I, Vukovic J, Brizic I, Katalinic V, Obad A, Palada I, Dujic Z, Boban M: The increase in human plasma antioxidant capacity after red wine consumption is due to both plasma urate and wine polyphenols. *Atherosclerosis*. 2008 Mar; 197 (1), S. 250-6.

Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ: Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest*. 2005 Jun; 127(6), S. 2254-63.

Mohammed Abdul MI, Jiang X, Williams KM, Day RO, Roufogalis BD, Liauw WS, Xu H, McLachlan AJ: Pharmacodynamic interaction of warfarin with cranberry but not with garlic in healthy subjects. *Br J Pharmacol*. 2008 Aug; 154 (8), S. 1691-700.

Morillas-Ruiz J, Zafrilla P, Almar M, Cuevas MJ, López FJ, Abellán P, Villegas JA, González-Gallego J: The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2005 Dec; 95 (5-6), S. 543-9.

Morris NS, Stickler DJ: Does drinking cranberry juice produce urine inhibitory to the development of crystalline, catheter-blocking *Proteus mirabilis* biofilms? *BJU Int*. 2001 Aug; 88 (3), S. 192-7.

Mozzicafreddo M, Cuccioloni M, Cecarini V, Eleuteri AM, Angeletti M: Homology modeling and docking analysis of the interaction between polyphenols and mammalian 20S proteasomes. *J Chem Inf Model*. 2009 Feb; 49 (2), S. 401-9.

Naganuma M, Shiga T, Nishikata K, Tsuchiya T, Kasanuki H, Fujii E: Role of desethylamiodarone in the anticoagulant effect of concurrent amiodarone and warfarin therapy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2001 Oct ;6 (4), S. 363-7.

Naissides M, Mamo JC, James AP, Pal S: The effect of acute red wine polyphenol consumption on postprandial lipaemia in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2004 Dec; 177 (2), S. 401-8.

Nakaishi H, Matsumoto H, Tominaga S, Hirayama M: Effects of black current anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans. *Altern Med Rev*. 2000 Dec; 5 (6), S. 553-62.

Nelson D, Cox M: *Lehninger Biochemie*, 3. Auflage, Springer-Verlag Berlin 2001

Neto CC: Cranberry and blueberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases, *Mol Nutr Food Res*. 2007 Jun; 51 (6), S. 652-64.

Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P: Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*. 1997 Jul; 43(7), S. 1209-14.

Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN: Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr*. 1998 Aug; 68 (2), S. 258-65.

Nolan PE Jr, Erstad BL, Hoyer GL, Bliss M, Gear K, Marcus FI: Steady-state interaction between amiodarone and phenytoin in normal subjects. *Am J Cardiol*. 1990 May; 65 (18), S. 1252-7.

Nyman NA, Kumpulainen JT: Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem*. 2001 Sept; 49 (9), S. 4183-7.

Oak MH, Bedoui JE, Madeira SV, Chalupsky K, Schini-Kerth VB: Delphinidin and cyanidin inhibit PDGF(AB)-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK. *Br J Pharmacol*. 2006 Oct; 149 (3), S. 283-90.

Obach RS: Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by constituents of St. John's Wort, an herbal preparation used in the treatment of depression. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000 Jul; 294 (1), S. 88-95.

Olinski R, Gackowski D, Foksinski M, Rozalski R, Roszkowski K, Jaruga P. Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome. *Free Radic Biol Med*. 2002 (33), S.192-200.

Oliveira RP, Florence AC, Silva RC, Perego P, Converti A, Gioielli LA, Oliveira MN: Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *Int J Food Microbiol*. 2009 Jan; 128 (3), S. 467-72.

Ongol MP, Iguchi T, Tanaka M, Sone T, Ikeda H, Asano K, Nishimura T: Potential of Selected Strains of Lactic Acid Bacteria to Induce a Th1 Immune Profile. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2008 Nov; 72 (11), S. 2847-57.

Ortiz de Montellano PR: The 1994 Bernhard B Brodie Award Lecture. Structure, mechanism, and inhibition of cytochrome P450, *Drug Metab Dispos*. 1995 Nov; 23 (11), S. 1181-7.

Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N, Aronson W, Hong J, Barnard RJ, Seeram N, Liker H, Wang H, Elashoff R, Heber D, Aviram M, Ignarro L, Belldegrun A: Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2006 Jul; 12 (13), S. 4018-26.

Paolisso G, Di Maro G, Galzerano D, Cacciapuoti F, Varricchio G, Varricchio M, D'Onofrio F: Pharmacological doses of vitamin E and insulin action in elderly subjects. *Am J Clin Nutr*. 1994 Jun; 59 (6), S. 1291-6.

Papamichael C, Karatzis E, Karatzi K, Aznaouridis K, Papaioannou T, Protogerou A, Stamatielopoulos K, Zampelas A, Lekakis J, Mavrikakis M: Red wine's antioxidants counteract acute endothelial dysfunction caused by cigarette smoking in healthy nonsmokers. *Am Heart J*. 2004 Feb; 147 (2), S. 274.

Papamichael C, Karatzi K, Karatzis E, Papaioannou TG, Katsichti P, Zampelas A, Lekakis J: Combined acute effects of red wine consumption and cigarette smoking on haemodynamics of young smokers. *J Hypertens*. 2006 Jul; 24 (7), S. 1287-92.

Passamonti S, Terdoslavich M, Margon A, Cocolo A, Medic N, Micali F, Decorti G, Franko M: Uptake of bilirubin into HepG2 cells assayed by thermal lens spectroscopy. Function of bilitranslocase. *FEBS J*. 2005 Nov; 272 (21), S. 5522-35.

Passamonti S, Vrhovsek U, Mattivi F: The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Aug; 296 (3), S. 631-6.

Patterson RE, Neuhouser ML, Hedderson MM, Schwartz SM, Standish LJ, Bowen DJ, Marshall LM: Types of alternative medicine used by patients with breast, colon, or prostate cancer: predictors, motives, and costs. *J Altern Complement Med*. 2002 Aug; 8 (4), S. 477-85.

Perucca E, Gatti G, Cipolla G, Spina E, Barel S, Soback S, Gips M, Bialer M: Inhibition of diazepam metabolism by fluvoxamine: a pharmacokinetic study in normal volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 1994 Nov; 56 (5), S. 471-6.

Peterson J, Dwyer J, Adlercreutz H, Scalbert A, Jacques P, McCullough ML: 2010 Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction *Nutr Rev*. 2010; 68 (10), S. 571–603.

Phillips IR, Shephard EA (Hrsg.): *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, Vol. 107, S. 319-339, Totowa 1998.

Promega Corporation (Hrsg.): P450-Glo™ Screening Systems. Technical Bulletin. TB340. Instructions for use of products V9770, V9790, V9880, V9890, V9800 and V9910, 1. Auflage, Madison 2007.

Renaud S, de Lorgeril M: Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease, *Lancet*. 1992 Jun; 339 (8808), S. 1523-6.

Rendic S: Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev*. 2002 Feb-May; 34(1-2), S. 83 -448.

Renz-Polster H, Krautzig S: *Basislehrbuch Innere Medizin*, 4. Auflage, Urban und Fischer Verlag, 2008.

Rettie AE, Jones JP: Clinical and toxicological relevance of CYP2C9: drug-drug interactions and pharmacogenetics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005; 45, S. 477–94.

Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, Blough DK, Thummel KE, Veenstra DL, Rettie AE: Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med*. 2005 Jun; 352 (22), S. 2285-93.

Riederer P, Laux G, Pödlinger W: *Neuro-Psychopharmaka Ein Therapie-Handbuch: Band 3: Antidepressiva, Phasenprophylaktika und Stimmungsstabilisierer*, 2. Auflage, Springer-Verlag, 2013.

Romagnolo DF, Selmin OI: Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. *J Nutr Gerontol Geriatr*. 2012; 31 (3), S. 206-38.

Salsali M, Holt A, Baker GB: Inhibitory effects of the monoamine oxidase inhibitor tranylcypromine on the cytochrome P450 enzymes CYP2C19, CYP2C9, and CYP2D6. *Cell Mol Neurobiol*. 2004 Feb; 24 (1), S. 63-76.

Sand PG, Dreiseitel A, Stang M, Schreier P, Oehme A, Locher S, Hajak G: Cytochrome P450 2C19 inhibitory activity of common berry constituents, *Phytother Res*. 2010 Feb; 24 (2), S. 304-7.

Sarkar FH (Hrsg.): *Nutraceuticals and Cancer*. 1. Auflage, Springer Verlag Science & Business Media, Luxemburg 2011, S. 204.

Savai J, Varghese A, Pandita N, Chintamaneni M: In vitro assessment of CYP1A2 and 2C9 inhibition potential of *Withania somnifera* and *Centella asiatica* in human liver microsomes. *Drug Metab Pers Ther*. 2015 Jun; 30 (2), S. 137-41.

Scheen AJ: Drug interactions of clinical importance with antihyperglycaemic agents: an update. *Drug Saf.* 2005; 28 (7), S. 601-31.

Schelleman H, Bilker WB, Brensinger CM, Han X, Kimmel SE, Hennessy S: Warfarin with fluoroquinolones, sulfonamides, or azole antifungals: interactions and the risk of hospitalization for gastrointestinal bleeding. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Nov; 84(5), S. 581-8.

Schlager TA, Anderson S, Trudell J, Hendley JO: Effect of cranberry juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization. *J Pediatr.* 1999 Dec; 135 (6), S. 698-702.

Schmider J, Greenblatt DJ, von Moltke LL, Karsov D, Shader RI: Inhibition of CYP2C9 by selective serotonin reuptake inhibitors in vitro: studies of phenytoin p-hydroxylation. *Br J Clin Pharmacol.* 1997 Nov; 44 (5), S. 495-8.

Sconce EA, Khan TI, Wynne HA; Avery P, Monkhouse L, King BP, Wood P, Kesteven P, Daly AK; Kamali F: The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen, *Blood.* 2005 Mar; 106, S. 2329-33.

Seelinger G, Merfort I, Wölfl U, Schempp CM: Anti-carcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules.* 2008 Oct; 13 (10), S. 2628-51.

Seelinger G, Merfort I, Schempp CM: Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Med.* 2008 Nov; 74 (14), S. 1667-77.

Schwab M, Marx C, Zanger UM, Eichelbaum M, Fischer-Bosch M: Pharmakogenetik der Zytochrom-P-450-Enzyme: Bedeutung für Wirkungen und Nebenwirkungen von Medikamenten, *Dtsch Arztebl* 2002; 99(8), S. 497–504.

Shord SS, Cavallari LH, Viana MA, Momary K, Neceskas J, Molokie RE, Deyo K, Patel SR: Cytochrome P450 2C9 mediated metabolism in people with and without cancer. In: *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 2008 Dec; 46 (7), S. 365-74.

Si D, Wang Y, Zou YH, Guo Y, Wang J, Zhou H, Li ZS, Fawcett JP: Mechanism of CYP2C9 Inhibition by Flavones and Flavonols. *Drug Metab Dispos.* 2009 Mar; 37 (3), S. 629-34.

Siddoway LA: Amiodarone: guidelines for use and monitoring. *Am Fam Physician.* 2003 Dec; 68 (11), S. 2189-96.

Spina E, Perucca E: Clinical significance of pharmacokinetic interactions between antiepileptic and psychotropic drugs. *Epilepsia.* 2002; 43 (2), S. 37-44.

Suvarna R, Pirmohamed M, Henderson L: Possible interaction between warfarin and cranberry juice. *BMJ*. 2003 Dec; 327 (7429), S. 1454.

Talavéra S, Felgines C, Texier O, Besson C, Lamaison JL, Rémésy C: Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *J Nutr*. 2003 Dec; 133 (12), S. 4178-82.

Tassaneeyakul W, Guo LQ, Fukuda K, Ohta T, Yamazoe Y: Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochromes P450. *Arch Biochem Biophys*. 2000 Jun; 378 (2), S. 356-63.

Timan P, Rojanasthien N, Manorot M, Sangdee C, Teekachunhatean S.: Effect of synbiotic fermented milk on oral bioavailability of isoflavones in postmenopausal women. *Int J Food Sci Nutr*. 2014 Sep; 65 (6), S. 761-7.

Unger F: *Herzerkrankungen und Interventionsmöglichkeiten*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 1. Auflage, 1998. S. 71.

Unger M: Wie Naturstoffe die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen beeinflussen. *Pharm Ztg*. 2004, 149 (13), S. 21-8.

Quast P: *Beitrag zur Charakterisierung anthocyanhaltiger Alterungsprodukte in Buntsäften*, Cuvillier Verlag Göttingen, Göttingen, 1. Auflage 2008, S. 15.

Visser LE, Penning-van Bees FJ, Kasbergen AA, De Smet PA, Vulto AG, Hofman A, Stricker BH. Overanticoagulation associated with combined use of antibacterial drugs and acenocoumarol or phenprocoumon anticoagulants. *Thromb Haemost* 2002 Nov; 88 (5), S. 705-10.

Vitaglione P, Donnarumma G, Napolitano A, Galvano F, Gallo A, Scalfi L, Fogliano V: Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides. *J Nutr*. 2007 Sep; 137 (9), S. 2043-8.

Vrese M, Feindt F, Kristen H, Fenselau S, Lick S, Bockelmann W, Engel G, Heller KJ, Schrezenmeir J, Laue C: Nachweis probiotischer Eigenschaften von Milchsäurebakterien. Antibiotika- assoziierte Durchfälle als Untersuchungsmodell. *Forschungsreport Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz* 2003, 2, S. 43-46.

Walsky RL, Obach RS: Validated assays for human cytochrome P450 activities. *Drug Metab Dispos*. 2004 Jun; 32 (6), S. 647-60.

Wang B, Wang J, Huang SQ, Su HH, Zhou SF: Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance. *Curr Drug Metab*. 2009 Sep; 10(7), S. 781-834.

Ward NC, Hodgsons JM, Croft KD, Burke V, Beilin LJ, Puddey IB: The combination of vitamin C and grape-seeds polyphenols increases blood pressure: a randomized,

double-blind, placebo-controlled trial. J Hypertens. 2005 Feb; 23 (2), S. 427-34.

Watzl B: Glukosinolate. Basiswissen aktualisiert. Ernährungsumschau 48, (8) 2001, S. 330-33.

Watzl B: Saponine. Basiswissen aktualisiert. Ernährungsumschau 48 (6) 2001, S. 251-3.

Watzl B: Sulfide. Basiswissen aktualisiert. Ernährungsumschau 49, (12) 2002, S. 493-6.

Watzl B: Einfluss sekundärer Pflanzenstoffe auf die Gesundheit. In: Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hrsg.): Ernährungsbericht 2008. Bonn 2008, S. 335-79.

Watzl B, Leitzmann C: Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln: Ernährung und Immunologie.; 3. unveränderte Auflage, Hippokrates Verlag, Stuttgart 2005.

Watzl B, Rechkemmer G: Flavonoide. Ernährungs-Umschau 48, (12), 2001, S. 498-502.

Watzl B, Briviba K, Rechkemmer G: Anthocyane. Ernährungsumschau, 49, 2002, S. 148-50.

Wells PS, Holbrook AM, Crowther NR, Hirsh J: Interactions of warfarin with drugs and food. Ann Intern Med. 1994 Nov; 121 (9), S. 676-83.

Wijnen PA, Op den Buijsch RA, Drent M, Kuipers PM, Neef C, Bast A, Bekers O, Koek GH: Review article: the prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms, Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 26, 2007, S. 211-19.

Worzella T, Larson B, Cali J, Gallagher A, Matthews E: Miniaturizing luminescent P450-Glo™ Assays for HTS, Promega Cell Notes, 10, 2004, S. 6-9.

Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL: Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. J Agric Food Chem. 2006 May; 54 (11), S. 4069-75.

Yamaori S, Takami K, Shiozawa A, Sakuyama K, Matsuzawa N, Ohmori S: In vitro inhibition of CYP2C9-mediated warfarin 7-hydroxylation by iguratimod: possible mechanism of iguratimod-warfarin interaction. Biol Pharm Bull. 2015; 38 (3), S. 441-7.

Yang R, Luo Z, Liu Y, Sun M, Zheng L, Chen Y, Li Y, Wang H, Chen L, Wu M, Zhao H: Drug Interactions with Angiotensin Receptor Blockers: Role of Human Cytochromes P450. Curr Drug Metab. 2016;17(7):681-91.

Zern TL, Fernandez ML: Cardioprotective effects of dietary polyphenols. Nutr. 2005

Oct; 135 (10), S. 2291-4.

Zhang L, Wei MJ, Zhao CY, Qi HM: Determination of the inhibitory potential of 6 fluoroquinolones on CYP1A2 and CYP2C9 in human liver microsomes. *Acta Pharmacol Sin.* 2008 Dec; 29 (12), S. 1507-14.

Zheng CJ, Qin LP: Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* 2007 May; 5 (3), S. 348-51.

Zusatzstoff-Verkehrsverordnung vom 29. Januar 1998 (BGBl. I, S. 230, 269), zuletzt geändert am 11. Juni 2009 (BGBl. I, S. 1277).



## 8 Lebenslauf

17.07.1984	Geburt in Passau
09/1991 - 07/1995	Grundschule Thyrnau
09/1995 - 06/2004	Gymnasium Untergriesbach
06/2004	Allgemeine Hochschulreife
10/2004	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Regensburg
08/2006	Erster Teil der ärztlichen Prüfung
02/2010 - 05/2010	Praktisches Jahr: 1. Tertial Pädiatrie, Hedwigsklinik Regensburg
06/2010 - 09/2010	Praktisches Jahr: 2. Tertial Innere Medizin, Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg
10/2010 - 01/2011	Praktisches Jahr: 3. Tertial Chirurgie, Hospital Eugenio Espejo, Quito, Ecuador
05/2011	Zweiter Teil der ärztlichen Prüfung
09/2011 - 08/2014	Assistenzärztin in der Inneren Medizin, Goldbergklinik Kelheim
Seit 09/2014	Assistenzärztin in der Inneren Medizin, Krankenhaus Weilheim-Schongau GmbH
11/2014	Erwerb der Zusatzbezeichnung Notfallmedizin
Seit 01/2015	aktiv als Notärztin tätig
04/2017	Erwerb der Facharztbezeichnung für Innere Medizin

## 9 Danksagung

Die vorliegende Dissertation habe ich am Lehrstuhl für Psychiatrie und Psychotherapie der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg angefertigt.

Mein Dank gilt allen, die durch ihre freundliche Unterstützung zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Göran Hajak für die Überlassung des aktuellen und interessanten Themas und die Korrektur der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Helmfried Klein, dem vormaligen, und Herrn Prof. Dr. Rainer Rupprecht, dem aktuellen Lehrstuhlinhaber für die Möglichkeit, diese Arbeit an seinem Lehrstuhl anzufertigen.

Herrn PD Dr. Philipp Sand für die gute Betreuung im Labor und die kritische Korrektur der Rohfassung, sowie dem gesamten Laborteam, allen voran Frau Dr. Andrea Dreiseitel für die Unterstützung bei theoretischen und praktischen Problemen bei der Laborarbeit.

Meinen Eltern, Marianne und Carmelo Ramirez, die mir mein Studium ermöglichten und mir immer mit Rat und Tat zur Seite standen und stehen.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinem Mann, Benedikt Booker, für seine unermüdliche Motivation und Unterstützung.



